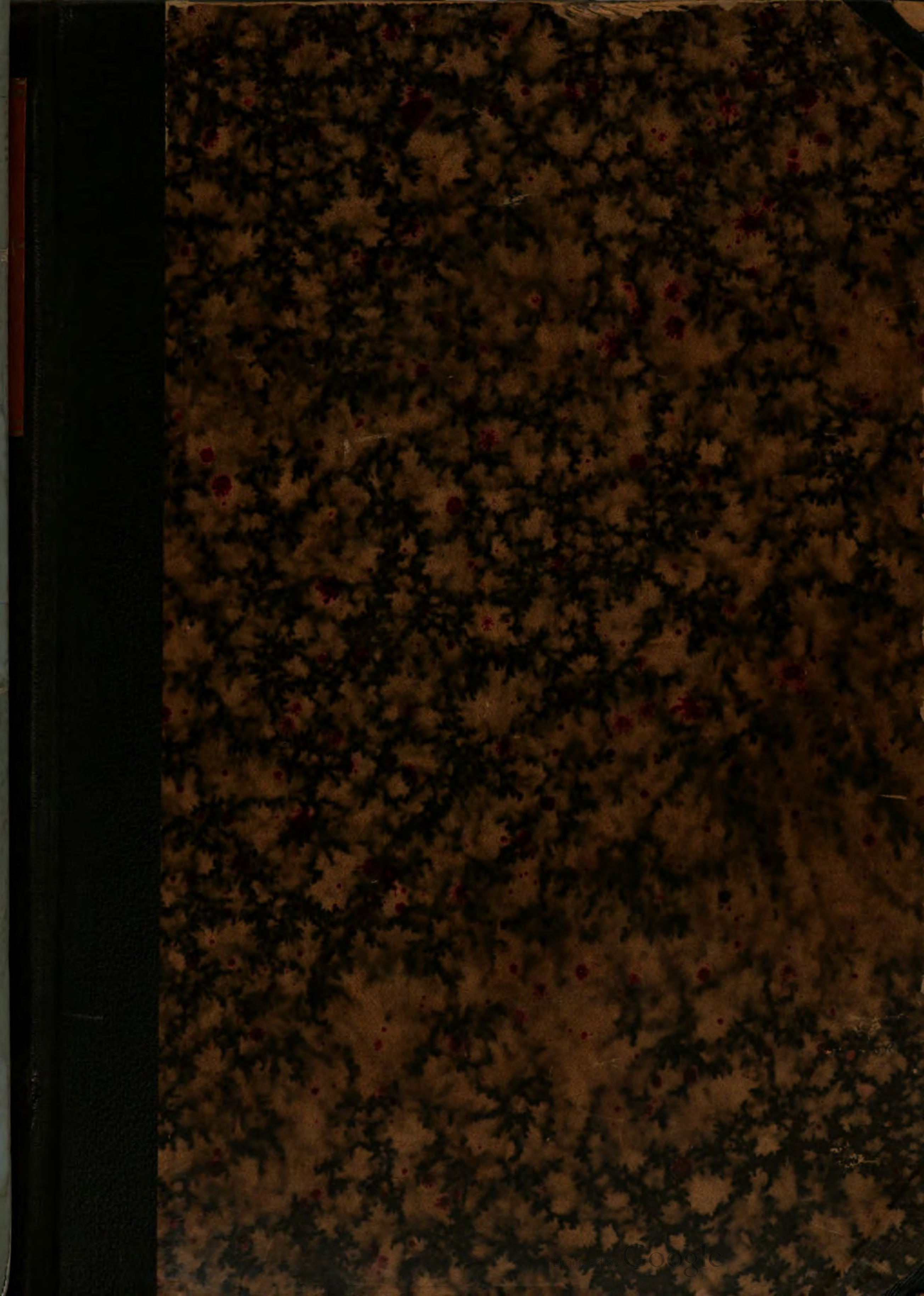






Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn

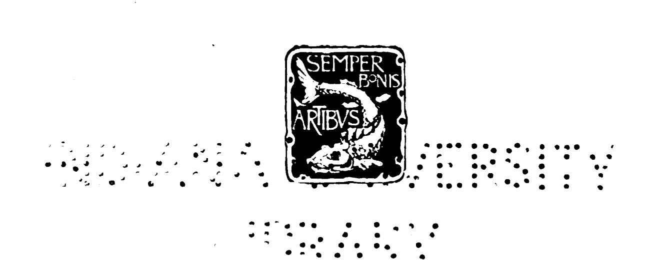
herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin Hamburg

Einundzwanzigster Band

Mit 27 Tafeln und 29 Textfiguren



JENA
Verlag von Gustav Fischer
1911

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.

Drittes Heft.

Zur Morphologie und Physiologie einiger Infusorien *(Paramaecium caudatum)* auf Grund einer neuen histologischen Methode.

Von

Dr. A. Khainsky.

(Hierzu Tafel I—III und 2 Textfiguren.)

Inhalt.



Einleitung.

Vorliegende Arbeit habe ich im Zoologischen Institut zu Heidelberg im Laufe des Sommersemesters 1909 selbständig ausgeführt. Sie bildet eine natürliche Fortsetzung und weitere Vertiefung in die physiologisch-histologischen Fragen, die in meiner ersten Arbeit (54) behandelt wurden. Das Wesentliche in dieser Arbeit besteht meines Erachtens in der Anwendung des Broms und Chlors mit verschiedenen weiteren Arten der Bearbeitung auf die histologische Technik. Die theoretischen Grundlagen für das Bromieren resp. Chlorieren der tierischen Zellen habe ich aus der organischen Chemie gewonnen, wo Brom resp. Chlor in weitem Umfang zur Synthese organischer Verbindungen benutzt werden und wo Brom- resp. Chlorverbindungen in der Mehrzahl von Fällen als Ausgangsprodukte für die Gewinnung organischer Substitionen dienen. Auf Grund der verhältnismäßigen Leichtigkeit, mit der die Brom- resp. Chlorverbindungen verschiedener organischer Stoffe hergestellt werden können, der energischen Wirkung dieser Elemente und der Beständigkeit der Brom- resp. Chlorderivate, bin ich zum Schluß gekommen, daß die Anwendung von Brom resp. Chlor auf den komplizierten Komplex der Zellenstoffe ähnliche Wirkungen erzielen könnte. Anfänglich war mein Hauptzweck dabei das Streben nach einer mikrochemischen Analyse, in der die Brom- und Chlorverbindungen der Zellenstoffe als Ausgangsprodukte für weitere Substitutionen dienen könnten. Jedoch haben die wichtigen Resultate, die durch die Wirkung des Broms resp. Chlors auf dem Gebiet der histologischen Analyse der Morphologie und Physiologie der Zelle erzielt worden sind, sofort den Gegenstand vorliegender Arbeit bestimmt. Ohne auf die mikrochemischen Experimente zu verzichten, denn ich möchte sie nur einer nicht weit

entfernten Zukunft vorbehalten, erlaube ich mir jene neuen und meines Erachtens interessanten Ergebnisse mitzuteilen, die zu erzielen nur dank der Vervollkommnung auf dem Gebiet der histologischen wissenschaftlichen Methodologie möglich gewesen ist.

Als meine erste Pflicht erachte ich es, Herrn Professor O. Bütschli meinen aufrichtigen Dank auszusprechen, durch dessen Ratschläge und Hinweise meine Arbeit wesentliche Förderung erfahren hat und in dessen Laboratorium es mir möglich gemacht worden ist, die notwendigen Experimente auszuführen. Meinen besten Dank auch dem Herrn Assistent Dr. E. Widmann, der meiner Arbeit mit Interesse gegenüberstand und ihr aus seiner praktischen Erfahrung reiche Förderung angedeihen ließ.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. P. Mitrophanow und unter Zustimmung des Herrn Professor Bütschli wurde vom Erstgenannten im Warschauer Verein der Naturforscher über meine Arbeit 13. Oktober (30. September) 1909 referiert. An dieser Stelle habe ich die Ehre Herrn Prof. Dr. P. Mitrophanow meinen innigsten Dank auszusprechen.

Methodik.

Schon die ersten Experimente der Anwendung von Brom für die histologische Technik haben klar gezeigt, was für ein gutes Fixierungsmittel es ist. Bei Paramäcien, welche einer starken und raschen Einwirkung von Brom ausgesetzt werden, bleibt ihr normales Äußere erhalten: keinerlei Aufquellen, keinerlei Deformation der äußeren Form, die in höherem oder geringerem Maße bei anderen bisher gebräuchlichen Fixierungsmitteln stets auftritt, war zu bemerken. Nur konzentrierte Sublimatlösung nähert sich dem Brom in seiner Wirkung auf die Paramäcien. Wenn aber die Paramäcien der langsamen Einwirkung des Broms oder seiner Dämpfe ausgesetzt werden, so treten alle Erscheinungen der äußeren Deformation in ziemlich starkem Maße auf. Der Konservierung der normalen äußeren Gestalt entspricht eine ebensolche der Struktur der inneren Teile. Am besten wird bei starker und rascher Bromwirkung die Struktur der Pellicula und des Ectoplasmas mit allen seinen Bestandteilen konserviert. Nur die Cilien werden vollständig vernichtet: in Präparaten in toto, als auch an den Schnitten sind die Cilien nur in ganz beschränkter Anzahl zu sehen. Dagegen bleiben die

Trichocysten mit seltenen Ausnahmen sämtlich nicht ausgeschnellt erhalten, im Gegensatz zur Wirkung anderer Fixierungsmittel, bei denen die Mehrzahl der Trichocysten ausgeschnellt werden. Sehr gut bleiben die contractilen Vacuolen nebst den zuführenden Kanälen in den verschiedenen Stadien erhalten, ebenso auch die Nahrungsvacuolen, der Macro- und Micronucleus. Jedoch wird das Endoplasma nicht so gut fixiert. Auf Grund aller dieser vorbereitenden Versuche war ich in der Lage, bestimmte kompliziertеste Fixierungsverfahren auszuarbeiten, indem ich andere Stoffe in verschiedenen Proportionen mit Brom kombinierte — je nachdem, welche Teile des Paramäciumskörpers ich konservieren und untersuchen wollte.

Die technische Durchführung der Bromwirkung auf die Paramäcien meinte ich theoretisch mittels eines Stroms von Bromdämpfen durch die Waschflasche nach Drechsel, in denen sich die Paramäcien mit etwas Wasser befänden, zu erreichen. Aber aus praktischen Gründen wurde dieser Plan fallen gelassen; unter der Bromeinwirkung werden nämlich die Paramaecien sehr spröde und zerbrechlich und würden daher, einem stetigen Luftstrom ausgesetzt, zerfallen. Die besten Resultate lieferte folgendes Verfahren: auf ein Uhrgläschen von 10 ccm tropfte ich 2—3 ccm starken Bromwassers und einige Tropfen reinen Broms; in diese Flüssigkeit goß ich eine bereitgehaltene Reinkultur von Paramäcien. In jenen Fällen, wo es notwendig ist, alle Stadien der Nahrungsvacuolen zu erhalten, muß die Herstellung der Reinkultur mit großer Schnelligkeit erfolgen, ebenso wie ihre Konservierung im Brom, denn schon vor einer Stunde nach der Herausnahme der Paramäcien aus der Kultur sind die Anfangsstadien der Nahrungsvacuolen an den Präparaten nicht mehr zu unterscheiden. Die Reinkulturen selbts wurden entweder mittels Kapillarpipetten oder auch durch Zentrifugieren herstellt. In der Lösung Brom + Bromwasser wurden die Paramäcien 10 bis 12 Stunden gelassen und zwar in einem kleinen flachen Glas, das nicht hermetisch abgeschlossen war, so daß das Brom verdunsten konnte. Nach sorgfältigem Auswaschen mit destilliertem Wasser kamen die Paramäcien zur weiteren Behandlung. Das Auswaschen, wie auch alle anderen Manipulationen bis zur Einbettung, wurde in kleinen Probiergläsern vorgenommen.

Um festzustellen, mit welchen Zellenstoffen das Brom unmittelbare chemische Verbindungen bildet, wendete ich Lösungen von Argentumnitrat 0,1—0,5 % nach der Bromierung an. In jenen Teilen des Zellkörpers, wo eine chemische Verbindung mit Brom stattfand, entstand ein Niederschlag von Bromsilber, der unter der Einwirkung

des Sonnenlichts klar sichtbar war. Auf Totopräparaten waren nach dieser Behandlung deutliche und reichliche Niederschläge am Kern und den Nahrungsvacuolen zu sehen. In der weiteren Darlegung werden wir auf dies komplizierte Verhältnis in der Disposition der Bromsilberniederschläge hinweisen. Gute Resultate werden bei der Einwirkung des Argentumnitrat in einer schwachen Lösung freier Salpetersäure in demselben prozentualen Verhältnis erzielt, da dabei das Endoplasma nebst seinen Bestandteilen besser fixiert wird. Die Anwendung von Brom + Bromwasser und weiterhin salpetersaures Silber + freie Salpetersäure von 0,1—0,5 % bildet die erste Modifikation der Fixation — M. I. Dieses Verfahren trägt eher einen mikrochemischen Charakter und kommt dort nicht in Betracht, wo es auf ein spezielles Bild des histologischen Baues ankommt, da der Niederschlag von Bromsilber die Details der Struktur verdunkelt. Speziell für histologische Zwecke habe ich nach Einwirkung von Brom + Bromwasser eine konzentrierte Sublimatlösung M. IIa
FLEMMING's Flüssigkeit M. IIb
und Chromessigsäure M. IIc
angewendet.

In allen diesen drei Fällen ist das Resultat gleich gut, etwas besser sind nur Sublimat und FLEMMING's Flüssigkeit.

Da die Cilien bei der Bromwirkung nicht erhalten bleiben und auch kein Ausschnellen der Trichocysten eintritt, so habe ich zur Fixation dieser Teile des Zellkörpers mittels Brom folgende Änderungen vorgenommen: zuerst wurden die Paramäcien mittels irgendeiner der gebräuchlicheren Flüssigkeit fixiert und erst nachher wurde mit Brom behandelt. Für Totopräparate unterwarf ich die Paramäcien meist in einem hängenden Wassertropfen der Einwirkung von Dämpfen der Osmiumsäure und danach den Bromdämpfen M. IIIa. Unter der Einwirkung der Osmiumsäuredämpfe geht ein intensives Ausschnellen der Trichocysten vor sich, was nach der darauffolgenden Behandlung mit Bromdämpfen bei schwachen Vergrößerungen deutlich zu bemerken ist: die ausgeschnellten Trichocysten umgeben den ganzen Körper.

Für Präparate in Schnitten wurden die Paramäcien mittels konzentrierter Sublimatlösung M. IIIb., oder FLEMMING's-Flüssigkeit M. IIIc. fixiert und später der Behandlung mit schwachem Bromwasser nach oben beschriebenem Verfahren unterworfen. Die Wirkung des Broms in M. IIIa, b, c ist nicht so sehr eine Fixation, als Beizung, denn das wichtigste Resultat der Brombehandlung, die nach der Fixation mittels einer der obengenannten Flüssigkeiten vorge-

nommen wurde, war die Färbung der Cilien und Trichocysten mit verschiedenen Farben. Dieser letzte Umstand ist besonders wesentlich, da bisher auf diesem Gebiet — vom physisch-chemischen Standpunkt aus — nur unvollkommene Methoden angewandt wurden.

Eine analoge Wirkung wird auch durch Chlor erzielt, das ich in der Form von frischbereitetem Chlorwasser benutzte. Der Charakter der weiteren Behandlung blieb derselbe wie bei der Bromierung, es wurden auch die gleichen Modifikationen und Kombinationen angewendet. Bezüglich der fixierenden Eigenschaften des Chlors ist zu bemerken, daß es bei starker und langdauernder Einwirkung auf die Zelle zerstörend wirkt, besonders auf die Endoplasmastoffe. Diese Tatsache steht zweifellos im Zusammenhang mit der energischeren Wirkung des Chlors auf die Zelle, was auch Bokorny (7, S. 273—274) bemerkte: in einer Lösung 1:100000 ist der Chlor bereits ein starkes Gift und tötet alle Infusorien, während in einer Bromlösung von 1:20000 nach 24 Stunden noch lebende Infusorien gefunden werden. Bemerkenswert ist, daß Chlor stärker als Brom wirkt und in einer Lösung von 1:50000 Infusorien tötet. Daher ließ ich die Paramäcien nie länger als 1—2 Stunden in Chlorwasser liegen und auch das unter der Bedingung einer freien Verdunstung des Chlors.

Zum Färben der Präparate wurden verschiedene Methoden benutzt, je nach den besonderen Zwecken. Zum Färben und Differenzieren der Nahrungsvacuolen wurden komplizierte Methoden angewandt: dreifache — Safranin, Gentiana, Orange-G — Färbung nach Flemming (F. 1), Safranin und Methylenblau (F. 2), Säurefuchsin, Phosphormolybdänsäure, Anilinblau-Orange-Oxalsäure — nach Mallory (F. 3), Eisenhämatoxylin nach Weigert (F. 4). Dieselben Färbungsmethoden dienten auch zur Differenzierung der Bestandteile des Ectoplasmas, der Trichocysten und Cilien auf den Schnitten. Speziell für die Trichocystenfärbung auf Schnitten benutzte ich die Mallory-Färbung in folgender Modifikation: nach dem Färben mit Säurefuchsin (etwa 10—15 Minuten) und dem Differenzieren in Phosphormolybdänsäure (2—3 Minuten) brachte ich die Präparate nacheinander in 0,5 % Gentianaviolettlösung (10—12 Stunden) und in eine konzentrierte Orange-G-Lösung (15—30 Minuten) (F. 5). Danach sind die Trichocysten und Cilien stark mit Gentiana gefärbt deutlich auf einem rosa Hintergrund zu sehen. Auf Totopräparaten wandte ich für die Färbung der Trichocysten und Cilien an: Gentiana (F. 6), Safranin (F. 7), Osmiumsäure mit nachfolgender Tanninwirkung (F. 8), Säurehämatoxylin nach Bütschli und Pyrogallolsäure (F. 9), Gemisch nach Blochmann (F. 10), Wollschwarz 0,5 % mit nachfolgender er-

gänzender Färbung durch Fuchsin, das in Anilinwasser nach Löffler aufgelöst wurde (F. 11) und auch Eisenhämatoxylin, und Mallory-Färbung. Die besten Resultate ergab die Färbung der Trichocysten und Cilien in toto durch Gentiana und Wollschwarz mit Anilin-Fuchsin. Zum Schluß sei auf eine technische Verbesserung beim Paraffineinbetten von Paramäcien hingewiesen. Bei der Bearbeitung so kleiner Objekte, wie die Paramäcien, traten bei ihrer Überführung in reines Paraffin meist Ergänzungsmethoden hinzu — wie die Verwendung von Photoxylin. Der große Nachteil dieser Methode besteht in ihrer ziemlichen Kompliziertheit und besonders in Anwendung von Äther. Ich wandte folgendes Verfahren an: nachdem die Paramäcien 2—3 Stunden mit einer Lösung von Xyol-Paraffin im Probierglas bei 56° C zugebracht hatten, kühlte ich rasch das Probierglas ab; es ergab sich eine festgeformte Masse, die sich leicht aus dem Glas herauslösen ließ. Ihr unterer Teil wurde an der Stelle, wo sich die Paramäcien befanden, abgeschnitten und in reines Paraffin getaucht. Nach der Auflösung des Blocks konzentrierten sich die Paramäcien an einer bestimmten Stelle und wurden so eingebettet.

Pellicula und Cilien.

Der ganze Paramäcienkörper ist von einer besonderen dünnen Haut — der Pellicula — bedeckt, die widerstandsfähig ist und dem Organismus die äußere Gestalt verleiht. Die Pellicula ist nichts anderes als eine differenzierte Schicht des Ectoplasmas, mit dem sie unmittelbar innigstens verbunden ist (vgl. Bütscli 8, S. 1260; Mitrophanow 66, S. 80; Cohn 22, S. 428). Bei anderen Arten der Infusorien und zwar bei denjenigen, die die Fähigkeit der Kontraktion besitzen, ist die Struktur der Pellicula eine derartige, daß sie leicht den Kontraktionen zu folgen und sich stark auszudehnen vermag. Dagegen ist die Dehnbarkeit der Pellicula bei den Paramäcien sehr gering. Die äußeren Deformationen des Körpers, wie sie durch langsamen und allmählichen Druck erreicht werden können, zeigen, daß die Pellicula nicht nach allen Richtungen gleich dehnbar ist und daß sie ihre ursprüngliche Gestalt wieder anzunehmen fähig ist, wenn sie unversehrt bleibt. Solche Erscheinungen sind leicht zu bemerken in jenen Fällen, wo eine intensive Vacuolisieruug des Protoplasmas vor sich geht, wie beim Hungern (Wallengren 105;

Khainsky 53, S. 51), dem Einfluß von Sauerstoff (Khainsky 56, S. 68), oder von schwachen Lösungen verschiedener Stoffe. Bei der Fixierung durch die verschiedenen bisher gebräuchlichen Mittel tritt ebenfalls stets ein Aufquellen ein, was in der Änderung der physischen Eigenschaften der Pellicula seine Erklärung findet. Augenscheinlich befindet sich die Pellicula bei vitalem Zustand in einer tonischen Spannung, deren Größe leicht nach der oder jener Richtung wechseln kann. Es muß angenommen werden, daß unter der Einwirkung starker Lösungen von Brom + Bromwasser die Pellicula gleichzeitig mit der Änderung ihrer physikalischen Eigenschaften sehr rasch hart und unelastisch wird. In voller Übereinstimmung mit dieser Auffassung steht die Tatsache der außerordentlichen Zerbrechlichkeit der bromierten Paramäcien. Die äußere Oberfläche der Pellicula stellt bei Paramäcien ein kompliziertes System von Vertiefungen und Erhöhungen vor, die in einer bestimmten Richtung verlaufen und die Körperstreifung bilden (Bütschli 8, S. 1280). Bei eingehenderer Betrachtung ist leicht ein kompliziertes Gitter polygonaler Feldchen zu unterscheiden, die gegeneinander durch erhöhte Umrisse abgegrenzt sind. Maupas (63, S. 588—589) beschreibt ein rhombisches System dieser Feldchen, während Bütschli (8, S. 1280 u. 1282), Kölsch (50, S. 291) und Maier (62, S. 91) nur den hexagonalen Typus der Feldchen feststellen. Bereits Schuberg (97, S. 94) hat nachgewiesen, daß in Wirklichkeit sowohl der hexogonale, als auch der rhombische Typus vorkommt, die durch allmähliche Verkürzung der parallelen Seiten des Hexagons ineinander übergehen. Durch meine Beobachtungen bin ich zur Überzeugung gelangt, daß die vorherrschende Form der Feldchen die hexagonale ist (Taf. I Fig. 1). Dabei sind zwei parallele Seiten zweier benachbarter Feldchen einer Reihe meist stärker und besser ausgebildet, als die übrigen vier Seiten. Bei Vergrößerung des Winkels zwischen den Kanten der seitlichen Reihen der Feldchen erhält man längliche Feldchen, die sich dem Parallelogramm nähern (Taf. I Fig. 2 u. 3). Die Längsstreifen haben dann eine der geradlinigen sich nähernde Richtung. Besonders deutlich ist dieser allmähliche Übergang der hexagonalen Feldchen in die länglichen Parallelogramme an den konvexen Enden der Paramäcien zu sehen. Bei schiefer Richtung können die Parallelogrammfeldchen in rhombische mit gleich gut entwickelten Umrissen übergehen (Taf. I Fig 4). Auf Querschnitten zeigen die Längsseiten einer Feldchenreihe zwei Erhöhungen und eine mittlere konkave Vertiefung (Taf. I Fig. 6). Bei der Fixation mit gewöhnlichen Flüssigkeiten ändert sich dieses Bild bedeutend.

Die Deformation geht manchmal so weit, daß die Cilien in spaltenförmigen Vertiefungen sitzen, der sie umgebende Teil der Pellicula aber durch die Fixation so aufgequollen sein kann, daß sie den Cilien eng anliegt.

Alle diese Tatsachen zeigen, daß die äußere Pellicula aus polygonalen Feldchen besteht, die an den Ecken etwas zugespitzte Erhöhungen haben und deren Wände auf den oberen Randkanten gewölbt sind.

Das Innere des Feldchens bildet eine Vertiefung, in dessen Mitte die Cilie entspringt. In jedem Feldchen sitzt eine Cilie, worin alle Autoren übereinstimmen. Auf meinen Längsschnitten finde ich in der Mitte jedes Feldchens einen dunkleren Punkt, wo sich die Cilien befunden hatten, da bei der Brombehandlung die Cilien zugrunde gehen (Taf. I Fig. 1—4). Diese Stellung der Cilien in der Mitte jedes Feldchens führt dazu, daß sie sich in der Längsrichtung in regelmäßigen Reihen anordnen, wobei die Cilien zweier benachbarter Reihen nicht nebeneinander liegen, sondern alternieren.

Ähnliche dunkle Punkte bezeichnen auf den Schnitten auch die Lage der Trichocysten. Diese letzteren sind an den Winkeln der polygonalen Feldchen und an den breiten Kanten zwischen den Feldchen jeder Reihe deutlich zu sehen (Taf. I Fig. 1—4). Schuberg (97, Taf. IV Fig. 9) beobachtete meist nur die beiden letzteren Trichocysten, nicht aber die der Ecken. Dies ist dadurch zu erklären, daß bei der Fixation mittels der gewöhnlichen Lösungen die Mehrzahl der Trichocysten ausgeschnellt wird (Wrześniowski 107, S. 44). Bei der Behandlung durch Brom + Bromwasser M. I u. II werden dagegen, wie ich bereits im Kapitel über die Methode gesagt habe, mit geringen Ausnahmen alle Trichocysten nicht ausgeschnellt, und meine Präparate bieten daher ein vollständiges Bild der Lage der Trichocysten.

Die Cilien sind nur am vorderen und hinteren Ende des Paramäciums länger als die übrigen. Das hintere Ende hat außer unbeweglichen Tastborsten einige Cilien, die die übrigen an Länge übertreffen, doch weisen sie nicht die für die übrigen Cilien charakteristischen Bewegungen auf, sondern vibrieren stetig geißelähnlich. Am vorderen Ende befinden sich ebenfalls etwas längere Cilien, die bei dem stillstehenden Tier ähnliche vibratile Bewegungen vollführen.

Über die Morphologie der Cilien betont Maupas (63, S. 535) ihre überall gleiche Dicke, Maier (62, S. 119) dagegen bemerkt eine schwache Verdünnung gegen das Ende, Bütschli (8, S. 1324)

hält beide Typen für wahrscheinlich. Die genannten Autoren hielten die Cilien für völlig homogen. Einen anderen Standpunkt vertritt Schuberg (97, S. 69—71), dem es mittels der Golgi- und Löffler-Methode gelungen ist, die Differenzierung der Cilien in zwei Abschnitten zu beweisen, die voneinander in der Färbung verschieden sind. Bei *Stentor* und *Paramaecium* bestehen nach ihm die Cilien aus zwei Abteilungen: die längere proximale färbt sich dunkel, das Endstück stets hell gefärbt. Aus seinen Abbildungen (Taf. IV Fig. 1—5) geht hervor, daß Schuberg keinerlei Zuspitzung der Cilien fand.

Auf meinen Totopräparaten, die nach M. IIIa bearbeitet und mit Gentiana gefärbt wurden, ist die Teilung der Cilien in zwei Abteilungen besonders klar sichtbar. Der größere Teil der Cilie wird intensiv dunkel gefärbt, während das distale, etwa $^1/_4$ der ganzen Cilie lange Endstück hell und durchsichtig bleibt (Taf. I Fig. 5a u. b). Dieses distale Endstück weist ein allmähliches Auslaufen auf, das in einer Zuspitzung endet. Diesen Bau zeigten sämtliche Cilien. Die Schnitte ergänzen die allgemeine Morphologie der Cilien. Dort, wo die Cilie durch die Pellicula hindurchgeht, ist eine kleine Verdickung bemerkbar. Dies hängt einerseits davon ab, daß die Pellicula an dieser Stelle selbst eine bedeutende Verdickung erfährt, andererseits ist sie durch eine Erhebung der Pellicula rings um die Cilie bedingt. Besonders klar ist diese Erhebung da zu sehen, wo keine Trichocysten vorhanden sind. Taf. I Fig. 7 bietet einen Schnitt des Cytostoms, wo es keine Trichocysten gibt, und hier sind diese kleinen Erhöhungen der Pellicula an den Cilien deutlich zu sehen.

Die meisten Autoren nehmen an, daß die Cilien die Pellicula durchbohren (Maier 62, S. 93; Maupas 63, S. 536; Lang 55, S. 114; Verworn 103, S. 86 und 104, S. 161). Auf Grund seiner Beobachtungen nimmt Bütschli die direkte Kontinuität von Cilien und Pellicula ein (8, S. 1325). Aus meinen experimentellen Resultaten geht hervor, daß die Pellicula kontinuierlich aufs engste mit den Cilien verbunden ist. Wenn man berücksichtigt, daß die Cilien aus einem plasmatischen Stoff fester Konsistenz bestehen und widerstandsfähig gegen die äußeren Faktoren sind, so muß man notgedrungen annehmen, daß die physikalischen Eigenschaften der äußeren Schicht der Cilien große Ähnlichkeit mit denen der Pellicula haben. Jedenfalls kann man zwischen den beiden keinen prinzipiellen Unterschied sehen — schon auch deshalb, weil die Pellicula, wie Bütschli zutreffend bemerkt, nur eine differenzierte äußere Schicht des Ecto-

plasmas bildet und darum ihr nicht entgegengesetzt werden kann. Ich glaube nicht, daß die Pellicula die ganze Länge des äußeren Teils der Cilie mit einer gleichmäßigen Schicht bekleidet; sie ist nur mit ihr organisch verbunden und geht allmählich in eine feine äußere Schicht des Cilienplasmas über, dessen Hauptmasse sich durch die Pellicula ins Innere des Ectoplasmas fortsetzt. Maier (62, S. 93) stellt für die Paramäcien den Ursprung der Cilien in der Oberschicht des Corticalplasmas fest, da er die Alveolarschicht bei den Paramäcien vollständig leugnet. An der Basis jeder Cilie beschreibt Maier eine Basalkörperchen (62, S. 92 u. 124). Indem ich die Frage der Alveolarschicht des Ectoplasmas bei den Paramäcien bis zum nächsten Kapitel zurückstelle, kann ich die Beobachtungen Maier's über die Basalkörperchen nur bestätigen. Diese letzteren sind in der inneren Abteilung der Cilie deutlich zu sehen und liegen auf der inneren Grenze der äußeren Schicht des Corticalplasmas auf demselben Niveau, an dem sich die Verbindung des haarförmigen Fortsatzes der Trichocysten mit ihrem Körper findet (Taf. I Fig. 6—8).

Nach der Bromeinwirkung bei M. III b, c werden die Cilien samt ihrem basalen Teile innerhalb des Ectoplasmas gut durch Safranin, Blochmann's Mischung, Gentiana nach meiner Modifikation F. 5 und natürlich auch durch Eisenhämatoxylin gefärbt. Die Basalkörperchen sind nicht die Endpunkte des inneren Teiles der Cilien; vom Basalkörperchen geht im Corticalplasma eine feine Fibrille ab, die nach der Brombehandlung deutlich gefärbt wird. Wenn der Schnitt gut gelungen ist, kann man oft die Fortsetzung dieser Fibrillen im Corticalplasma sehen (Taf. I Fig. 6 u. 8). In diesem Falle kann man diese plasmatischen Fibrillen als den Fibrillen der Flimmerepithelzellen homologe Bildungen betrachten, in denen die Fibrillen vom basalen Körperchen jeder Wimper abgehen und die komplizierten Figuren des Wurzelkonus bilden.

Aus der angeführten morphologischen Struktur der Cilien kann man mit Gewißheit einige vergleichend anatomische Verallgemeinerungen herleiten. Die Tatsache eines besonders differenzierten distalen Endstückes der Cilie und die einer stark sich färbenden Achse in ihrem proximalen Teil zeigt ihre Verwandtschaft mit den Geißeln der Mastigophoren und mit der Geißel der Spermatozoiten. Es ergibt sich auf diese Weise ein vollkommener Übergang von den Pseudopodien über die Filipodien und Axopodien zu Geißeln und Cilien (vgl. Bütschli 8, Schuberg 97). Andererseits verbindet das Vorhandensein der Basalkörperchen und der von ihnen ausgehenden

plasmatischen Fibrillen die Cilien genetisch mit den Cilien der Flimmerepithelzellen.

Die mit der Physiologie der Bewegung der Cilien verbundenen Fragen sind bisher noch nicht befriedigend gelöst worden, es existieren auf diesem Gebiet viele hypothetische Anschauungen. Die vorhandenen Meinungen darüber, woher die Cilien den Impuls zur Bewegung erhalten, zerfallen in zwei Richtungen. Viele Autoren sehen die kinetischen Centren der Cilien in den Basalkörperchen (Peter 73, S. 278, früher Gurwitsch 40, S. 57; Fürst 38, S. 253; Schuberg 97, S. 87). Diese Ansicht ist eng mit der Hypothese Lenhossek-Henneguy verbunden, nach der die Basalkörperchen Centrosomen sind. Auf Grund einer Analogie wird daraus der Schluß gezogen, daß auch die Rolle der Basalkörperchen eine analoge ist. Wie die Centrosomen kinetische Centren seien, spielten auch die Basalkörperchen dieselbe Rolle in bezug auf die Flimmern. Nach Benda (6, S. 156) sind die Basalkörperchen die Erregungscentren.

Anderer Richtung gehören jene Forscher an, die in den Basalkörperchen eine besondere Vorrichtung zur mechanischen Befestigung der Cilien sehen (Maier 62, S. 144; Eismond 28, S. 139; Gurwitsch in neuesten Arbeiten 41, S. 218 und 42, S. 62—64; Wallengren 106, S. 412—413). Außerdem nehmen Engelmann (29, S. 518), Gurwitsch (41, S. 214—216), Wallengren (106, S. 412—413) an, daß die Basalkörperchen und die plasmatischen Fibrillen mit der Cilie ein Ganzes bilden und zu ihrem Wachstum und ihrer Ernährung dienen. Eine besondere Stellung nimmt Nussbaum ein (73, S. 392), indem er die Fibrillen der Flimmerzellen als die Quelle der kinetischen Energie der Cilien anspricht; Apathy und Eimer nehmen sogar eine hypothetische Verbindung dieser Fibrillen mit Nervenfasern an. Maier (62, S. 144) und Eismond (28, S. 139) betrachten das Protoplasma als Träger der kinetischen Energie zur Bewegung der Cilien.

Ebenso streitig ist auch die Frage nach der physiologischen Bedeutung des Achsenfadens und Plasmahülle. Es ist die Ansicht sehr verbreitet, daß die Plasmahülle einen aktiven bewegenden, während die erstere passiver sich bewegenden Charakter hat. In diesem Falle wird dem Achsenfaden eine elastische Beschaffenheit zugeschrieben, die Plasmahülle wird als flüssig und beweglich betrachtet, der erstere verleiht nur eine bestimmte Form und hat mechanische Bedeutung, während die letztere sich aktiv kontrahieren kann (Bütschli 8, S. 287, Koltzoff 52, S. 688, Gurwitsch 42, S. 61, Schuberg 97, S. 78 u. 81). Ein umgekehrtes Verhältnis der beiden Teile nimmt Ballowitz an (3, S. 447).

Die im Laufe meiner Untersuchungen zutage getretenen Tatsachen zeigen klar, daß die Basalkörperchen einen Bestandteil des inneren Cilienteils bilden und sich in der Gestalt einer Verdickung am Körper der Cilien selbst entwickeln. Maier (62, S. 171) kommt bei seinen Untersuchungen über die Natur der Basalkörperchen zu dem Schluß, daß sie nichts anderes als besondere cytoplasmatische Verdickungen an den Wurzeln der Cilien von festerer Beschaffenheit sind. Solch eine Schlußfolgerung wäre berechtigt, wenn die Basalkörperchen den Endpunkt der Cilien im Plasma bildeten. In Wirklichkeit aber erstrecken sich die Cilien auch von den Basalkörperchen in das Plasma noch weiter hinein. Die Annahme, daß die letzteren anderer Natur sind, als der übrige Teil der Cilie, entbehrt jeder tatsächlichen Unterlage. Man muß die Cilie, das Basalkörperchen und fibrillare Fortsatz als ein kontinuierliches System betrachten, und die Basalkörperchen sind einfach eine lokale Verdickung der Cilie. Eine solche Auffassung der Natur der Basalkörperchen wird von folgenden Tatsachen bestätigt. Bei den Paramäcien sind die Basalkörperchen nicht streng von den Cilien geschieden, es ist vielmehr eine allmähliche Verdickung zu sehen; in manchen Fällen kann man überhaupt nur mit Mühe ein besonderes Basalkörperchen unterscheiden. Gewöhnlich beginnt die Cilie unter der pellicularen Verdickung sich allmählich zu verbreiten, nimmt manchmal eine ausgesprochene Kegelform an und geht in das Basalkörperchen über. Zwischen dem Basalkörperchen und der Fibrille ist der Übergang ein schrofferer. Zu diesen Tatsachen tritt der Hinweis Maier's auf die verschiedenen Formen der Basalkörperchen bei gewissen Infusorien, wonach sie von der Größe und Form der Cilien selbst bestimmt wird. Mit der Feststellung der mit dem übrigen Teil der Cilie identischen Beschaffenheit der Basalkörperchen fällt jede Möglichkeit fort, ihnen die Bedeutung kinetischer Centren beizumessen. Viel eher haben sie den Charakter rein mechanischer Stützpunkte, die den Cilien eine festere Stellung verleihen. Dieser Umstand ist besonders wichtig, damit die Bewegung der Cilien sich gleichmäßig und in den bestimmten Richtungen vollzieht. In mechanischer Hinsicht kann man die Cilienbewegung mit dem Oscillieren elastischer Lamellen vergleichen, die an der Basis mindestens zwei Befestigungspunkte haben müssen, damit ihre Bewegung sich in den gewissen Richtungen regelmäßig vollziehe. Der erste dieser zwei Punkte ist der Vereinigungsort der Cilien mit der Pellicula, der zweite liegt auf dem Gebiet des Basalkörpers.

Die Cilienbewegung vollzieht sich rhythmisch und metachronisch

(Verworn 105, S. 250 und Schuberg 98, S. 111). Die Art und Weise der Cilienbewegung erklärt Verworn (102, S. 93—97; 104, S. 238 u. 254) durch die Änderung der Oberflächenspannung und betrachtet die Cilienbewegung als reflektive Bewegung (103, S. 137). Er unterscheidet zwei Phasen in der Cilienbewegung: Kontraktions- und Expansionsphase. In der Kontraktionsphase nach Verworn kontrahiert sich eine contractile Seite der Cilie und dehnt dabei die gegenüberliegende; in der Expansionsphase führt die Cilie durch ihre Elastizität wieder in die Ruhelage zurück.

Bei meinen Beobachtungen habe ich bemerkt, daß nach einer Phase aktiver Kontraktion die Cilie in die Ruhelage passiv zurückkehrt. Diese zweite Expansionsphase ist bei der verlangsamten Cilienbewegung leicht zu beobachten. Von wichtiger Bedeutung für die Cilienbewegung während der Expansionsphase ist die Differenzierung der Cilie in zwei Abschnitte. Der proximale Teil der Cilie, der die festeren dunkelgefärbten Achsen aufweist, führt die Cilie während der Expansionsphase durch seine Elastizität in die Ruhelage und verleiht der Cilie ihre ursprüngliche Form. Das Endstück dagegen, welches einer elastischen Achse entbehrt, bleibt in dem Expansionszustand, bis die neue Kontraktion der Cilie eintritt. Letzteres ist für den ganzen Mechanismus der Cilienbewegung wichtig, da die Cilien in der zweiten Phase kleinere Widerstandflächen besitzen, als bei der aktiven Kontraktion.

Es bleibt noch die Bedeutung der plasmatischen Fibrillen der Cilien zu erörtern. Die Gleichartigkeit der Fibrillen mit dem übrigen Cilienteile beweist, daß ihre Hauptrolle in der Ernährung und dem Wachstum der Cilie besteht.

Ectoplasma und Trichocysten.

Unter der Pellicula des Paramäciums befindet sich eine besondere Plasmaschicht, die stets deutlich vom Endoplasma unterschieden ist. Dieses Ectoplasma zerfällt nach Bütschli (8, S. 1260) und Mitrophanow (66, S. 93) in zwei Teile — die Alveolarschicht und das Corticalplasma; Maier (62, S. 93) leugnet die Existenz einer Alveolarschicht bei Paramäcien. Bei der Brombehandlung nach M. I, welche die Pellicula und das Ectoplasma außerordentlich gut konserviert, konnte ich feststellen, daß das Ectoplasma

stets in zwei Schichten differenziert ist; eine oberflächliche unter der Pellicula liegende Schicht, die als Subpelliculare bezeichnet werden kann, färbt sich nach Brombehandlung viel intensiver, als das übrige Ectoplasma. Mit FLEMMING's Dreifachfärbung, mit Eisenhämotoxylin und nachfolgender Safraninfärbung differenziert sich die subpelliculare Schicht sehr gut, mit MALLORY-Färbung erhält sie einen blaßbläulichen Ton, während das Corticalplasma lilarot erscheint. Besonders deutlich tritt die Subpellicularschicht im Gebiet der contractilen Vacuole in Erscheinung, wo sie in den unvollständigen Diastolastadien die Gestalt eines bläulichen dünnen Plättchens hat. Die subpelliculare Schicht erhält sich auch immer dort, wo es keine Corticalplasma-Schicht gibt, z. B. im Cytostom (Taf. I Fig. 7). Die untere Grenze der subpellicularen Schicht wird durch die Basalkörperchen der Cilien und der haarförmigen peripheren Fortsätze der Trichocysten (Taf. I. Fig. 6, 7, 8) bestimmt. Es ist mir jedoch nicht gelungen, eine deutliche alveolare Struktur der subpellicularen Schicht zu beobachten; wenn auch einzelne Anzeichen dafür sprechen, so sind sie sehr undeutlich. Anatomisch ist die Subpellicularschicht der Paramäcien mit der Alveolarschicht anderer Infusorien, die sie deutlich aufweisen, zweifellos homolog.

Das Corticalplasma erscheint homogen und unterscheidet sich seiner festeren Konsistenz nach vom Entoplasma. Experimente mit Sauerstoffeinwirkung (KHAINSKY 53, S. 82—83) ergaben, daß Corticalplasmastoffe sich nicht so leicht oxydieren, wie die des Entoplasmas. In morphologischer Hinsicht wird das Corticalplasma durch das Vorhandensein der Trichocysten und der inneren Cilienfortsetzung charakterisiert.

Die Trichocysten sind mit ihrem peripheren Ende an der Pellicula befestigt und verbreiten sich über die ganze Oberfläche in regelmäßigen Längsreihen; nur in dem Cytostom (Taf. I, Fig. 7) und auf einem begrenzten Gebiet über den contractilen Vacuolen (Taf. II u. III) fehlen die Trichocysten vollständig, wo übrigens auch das Corticalplasma nicht entwickelt ist. Das Vorder- und Hinterende des Körpers sind besonders reich mit Trichocysten versehen, die dort anschauliche Anhäufungen bilden. Auf der übrigen Oberfläche sind sie gleichmäßig verbreitet. Die Eigentümlichkeiten in der Verbreitung der Trichocysten auf der Körperoberfläche haben ihren Grund in der äußeren Struktur der Pellicula. Bei lebenden Paramäcien sind die Trichocysten deutlich zu sehen, da sie etwas stärker lichtbrechend als das umgebende Plasma sind. Nach MAUPAS haben die Trichocysten die Form „d'un corps fusiforme allongé, avec

un des extrémités plus obtuse et peus épaisse . . . Elle est, munie d'un prolongement filiforme très délié et assez difficile a voir. Le corps fusiforme est opaque, homogène et aucune structure particulière" (63, S. 609—610). Mit dieser Beschreibung stimmen die Beobachtungen von Maier (62, S. 93), Mitrophanow (66, S. 82) und Kölsch 50, S. 284—285) überein. Nach allen genannten Autoren entbehren die Trichocysten jeder innern Differenzierung. Nur bei Maier (62, S. 95) finden wir den Hinweis auf eine gewisse morphologische Differenzierung in der Struktur der Trichocysten. Maier schreibt dem fadenartigen Fortsatz der Trichocysten eine festere Beschaffenheit zu, als der übrigen weicheren, homogenen, sich schwach färbenden Masse der Trichocysten, die auf seiner Oberfläche von einer dunkleren Membran bekleidet sind. Die Tatsache einer besonderen Struktur stellt Schuberg (97, S. 102—106) für die ausgeschnellten Trichocysten fest, bei denen das äußere Ende sich deutlich in der Gestalt eines besonderen „Kopfs" absetzt. Hinweise auf einem solchen Kopfteil finden sich auch bei Maupas (63, Taf. XXI Fig. 15) und Maier (62, Taf. III Fig. 6e). Dieser Kopf hat nach Schuberg's Beschreibung eine ziemlich verschiedenartige Form und färbt sich nach Löffler's Methode intensiv schwarz, während der übrige Teil der ausgeschnellten Trichocysten sich blasser färbt. Diesen Kopf hält Schuberg für homolog dem haarförmigen Fortsatz der nichtausgeschnellten Trichocysten (97, S. 106).

Meine Untersuchungen mittels Brombehandlung haben es möglich gemacht, einen komplizierten Prozeß von Strukturveränderungen der Trichocysten in Verbindung mit unbezweifelbaren chemischen Umwandlungen ihrer Substanz festzustellen. Auf Präparaten in toto, die nach M. III a hergestellt und nach F. 11 (Wollschwarz-Fuchsin) gefärbt waren, erschienen die nicht ausgeschnellten Trichocysten deutlich in zwei Abschnitte differenziert: einen vordern Teil, welcher dunkler und intensiv bläulich-schwarz gefärbt ist und einen helleren, völlig durchsichtigen hinteren (Taf. I Fig. 11—23). Noch deutlicher war diese Differenzierung mit Gentianafärbung: der hintere Teil ist dann hell, durchsichtig und geht in den vorderen, ebenfalls durchsichtigen aber dunkler violett-rot gefärbten Teil über. Bemerkenswert erscheint jedoch, daß das Größenverhältnis der beiden Teile sehr verschieden ist. Man kann deutlich sehen, wie allmählich der helle Teil auf Kosten des dunklen sich vergrößert. Neben total dunkelgefärbten Trichocysten, die aber recht selten vorkommen (Taf. I Fig. 9), existiert eine ganze Reihe von Übergangsformen, bei denen sich der beschriebene Differenzierungsprozeß allmählich

entwickelt. Von solchen Formen, wo der helle Teil nur einen kleinen Abschnitt des hinteren Endes der Trichocysten bildet (Taf. I Fig. 10—14), geben die Präparate eine ganze Serie von Trichocysten, bei denen der helle Teil immer sich vergrößert (Taf. I Fig. 15—17), bis der dunkle Teil nur einen ganz kleinen Abschnitt des vorderen Endes einnimmt (Taf. I Fig. 18—23). Es liegt hier wohl unzweifelhaft ein chemischer Umwandlungsprozeß der ursprünglich dunkel sich färbenden Substanz der Trichocyste in einen Stoff anderer chemischer Beschaffenheit vor. Eine solche chemische Auffassung des morphologischen Differenzierungsprozesses in den Trichocysten wird auch durch die Tatsache begründet, daß während dieser Differenzierung im Trichocystenkörper deutliche Vacuolisation zu bemerken ist (Taf. I Fig. 24—27), ebenso wie auch eine deutliche Ungleichartigkeit in der Struktur (Taf. I, Fig. 24 u. 28). Die Vacuolisation ist ein allgemeines Anzeichen für die chemische Umwandlung der Zellsubstanz, wie ich bereits für die Protoplasma- und Kernstoffe im Hungerzustand und unter Sauerstoffeinwirkung ausgeführt habe (Khainsky 53). Ein solcher Veränderungsprozeß im Trichocystenkörper habe ich auch mit Färbung Tannin-Osmiumsäure (F. 8), essigsaurem Hämatoxylin und Pyrogallussäure (F. 9) nach der vorhergehenden Brombehandlung erzielt, nur das Eisenhämatoxylin hat fast gänzlich negative Resultate geliefert.

An isolierten Trichocysten läßt sich kein haarförmiger Fortsatz des äußeren Endes beobachten, nur zuweilen ist ein zugespitztes Endchen in der Gestalt eines kleinen Zusatzes (Taf. I Fig. 9, 15, 19, 27) zu bemerken. Anfänglich nahm ich an, daß sich der haarförmige Fortsatz bei der Maceration einfach ablöst, später überzeugte ich mich, daß dies nicht der Fall ist, sondern daß der Fortsatz infolge der veränderten Oberflächenspannung und der veränderten osmotischen Erscheinungen einfach aufquillt. Davon kann man sich in jenen Fällen überzeugen, wo am äußeren Ende der Trichocysten deutlich ein dünner Kopf zu sehen ist (Taf. I Fig. 21—27) oder auch ein allmählicher Übergang zum zugespitzten Ende (Taf. I Fig. 15, 17, 19). In den Fällen, wo die Trichocysten sich in der Ectoplasmaschicht befinden und mit der Pellicula verbunden sind, bleibt ihnen ihre gewöhnliche normale Gestalt erhalten (Taf. I Fig. 28—29); alle jene Trichocysten aber, die zwar von der Pellicula nicht losgelöst, sich aber nicht mehr im Ectoplasma befinden, nehmen eine spindelförmig-längliche Gestalt an und der haarförmige Fortsatz ist an ihnen nicht deutlich zu sehen.

Die morphologische Differenzierung der Trichocysten habe ich

auch auf Schnitten mit Hilfe der Färbungsmethode F. 5 festgestellt; sogar bei der Färbung durch Eisenhämatoxylin ist an feinen Schnitten ein hellerer innerer Teil mit dunklerem Randkontur zu sehen; auf dem Querschnitt ist eine innere hellere Masse von einem dunklen Ring umgeben (Taf. I Fig. 6—8). Dabei waren der haarförmige Fortsatz und ein kleiner Teil des peripheren Endes dunkler gefärbt. In Verbindung mit dieser Differenzierung im Trichocystenkörper steht eine merkwürdige Erscheinung, die bei der Mallory-(F. 3)-Färbung durch Brom nach M. III a bearbeiteter Präparate auftritt. Die nichtausgeschnellten Trichocysten färben sich teils hellrot, teils bläulich-grün, während sämtliche ausgeschnellten letztere Färbung annehmen; es gibt auch einige Trichocysten mit einem gemischten Übergangston, die dunkel-lila ist. Der Größe nach sind die Trichocysten, sowohl die nichtausgeschnellten (Taf. I Fig. 9 und 24—28), als die ausgeschnellten (Taf. I Fig. 30), sehr verschieden.

Die ausgeschnellten Trichocysten haben folgende Struktur: am peripheren Ende ist deutlich ein dunkelgefärbter Kopf zu sehen, der ganze übrige Körper ist dagegen durchsichtig hell (Taf. I Fig. 30). Gegenüber Schuberg muß ich auf die außerordentlich charakteristische und konstante Form dieses Kopfes hinweisen. Nur in der Größe, nicht aber in seinen Strukturverhältnissen sind Schwankungen zu beobachten; bei großen Trichocysten hat der ziemlich dicke Kopf entsprechend größere Form als bei den kleinen und dünnen. Am Kopf ist stets eine mit dem übrigen Trichocystenkörper unmittelbar verbundene Verdickung, ferner ein mittlerer dünner zusammengeschnürter Teil und endlich eine distale Verdickung, die von ganz geringen Dimensionen bis zu beträchtlicher Größe schwankt. In höchst seltenen Fällen haben die Trichocysten einen haarförmigen Fortsatz ohne distale Verdickung; die proximale Verdickung ist dagegen ausnahmslos vorhanden. Auf Schnitten kann man die allmähliche Bildung des Kopfes verfolgen. Der haarförmige Fortsatz verbreitet sich allmählich und weist beim Durchbohren der Pellicula die typische Zusammenschnürung auf (Taf. I Fig. 6 tr_1, tr_2, tr_3). Der sog. Kopf geht wohl zweifellos durch Aufquellen des distalen haarartigen Fortsatzes der Trichocyste beim Ausschnellen hervor und es ist wahrscheinlich, daß die verschiedenen Formen, welche der Kopf zeigt, durch die wechselnden Bedingungen bei der Durchbohrung der Pellicula hervorgerufen werden. Wenn die Pellicula plötzlich reißt, wird der Endteil der Trichocyste die Gestalt eines dünnen Kopfes haben oder es wird sogar der haarförmige Fortsatz erhalten sein; die Trichocyste selbst wird auch relativ dünn bleiben.

Bei größerem Widerstand der Pellicula wird ein größerer innerer Druck notwendig sein, der den Umfang des haarförmigen Fortsatzes vergrößern und die Öffnung entsprechend größer machen wird, die Trichocyste selbst wird einen größeren Querschnitt aufweisen. Es sind manchmal Fälle beobachtet worden, wo es der Trichocyste nicht möglich war, die Pellicula zu durchbohren, dann vollzog sich die Ruptur in das Entoplasma hinein (Taf. I Fig. 8 ts_1). Auf Grund aller dieser Tatsachen kann die genetische Homologie des haarförmigen Fortsatzes mit dem Kopf der ausgeschnellten Trichocysten festgestellt werden; die physiologische Funktion dieser beiden differenzierten Teile der Trichocyste ist auch ähnlich. Der haarförmige Fortsatz besteht wie der Kopf aus einer festeren Substanz, als die weichere übrige Masse der Trichocyste, und haben einen mechanischen Zweck. Mit Hilfe des Fortsatzes durchbohrt die Trichocyste die Pellicula, der feste Kopf der ausgeschnellten Trichocyste dient zum Stoß gegen den Fremdkörper und günstigenfalls zu seiner Durchbohrung. Auch Maier (62, S. 98) schreibt dem haarförmigen Fortsatz eine analoge mechanische Rolle zu, während Maupas (63, S. 611) ihn mit dem Cnidocil der Nesselzellen vergleicht. Die Unmöglichkeit einer solchen letzteren Auffassung ist von Bütschli (8, S. 1469) und Maier (62, S. 94) gezeigt worden. In dieser Hinsicht ist von Bedeutung zu bemerken, daß bei den anderen Infusorien, z. B. bei *Frontonia*, dieser Fortsatz kopfförmig ist (Maier 62, Taf. III Fig. 6), was in unbezweifelbarer Verbindung mit der allgemeinen Struktur der alveolaren resp. subpelliculären Schicht und mit seinen mechanischen Verhältnissen steht.

Wie die Ausschnellung selbst vor sich geht, haben wir bereits bei der Beschreibung der Kopfbildung und der verschiedenen Stadien der Trichocysten gesehen. Der die Ausschnellung bewirkende Faktor dürfte wohl die Retraktion der Pellicula infolge verschiedener äußerer Einflüsse sein. Bei jeder einseitigen äußeren Reizung tritt vermutlich eine lokale Kontraktion der Pellicula ein, was eine Ausschnellung der Trichocysten zur Folge hat. Stein (98, I. S. 10) erklärt die Ausschnellung der Trichocysten dadurch, daß „durch die Kontraktion des Körpers die dieselben bildende Masse durch in der Cuticula existierende Poren hindurchgepreßt werden“. Die Existenz solcher Poren habe ich auf den Präparaten nicht zu konstatieren vermocht. Es scheint, als ob die Trichocysten auch in normalem Zustande einen Druck auf die Pellicula ausüben und daß jener die Ursache der in den Winkeln der polygonalen Feldchen sich befindenden Erhöhungen ist, die wir oben beschrieben haben; jedenfalls erfolgt das Aus-

schnellen der Trychocysten bei starkem Druck. Es ist wohl anzunehmen, daß die Ruptur der Pellicula, die ja sehr dünn ist, an den Stellen vor sich geht, wo die Trichocysten befestigt sind. Die Tatsache, daß nicht sämtliche Trichocysten ausgeschnellt werden, sondern ein Teil unausgeschnellt bleibt, ist leicht zu erklären, wenn man bedenkt, daß der Ausschnellungsprozeß in enger Verbindung mit der chemischen Stoffumwandlung im Trichocystenkörper steht. Es werden nur jene Trichocysten ausgeschnellt, bei denen der Umwandlungsprozeß von Stoffen dichterer Konsistenz in eine sich schwachfärbende Substanz ganz vor sich gegangen ist. Der Umstand, daß die ausgeschnellten Trichocysten sich mit Mallory bläulich-grün färben, die nichtausgeschnellten eine rote oder bläulich-grüne Färbung annehmen können, bestätigt unsere Voraussetzung, daß die Trichocysten nur nach chemischer Umwandlung ausschnellungsfähig werden. Der Ausschnellungsmechanismus zeigt, daß die Masse des Trichocystenkörpers eine Flüssigkeit ist, während doch die Trichocysten vor ihr Umwandlung eine festere Konsistenz haben. Die Substanz der Trichocysten löst sich nicht im Wasser und die ausgeschnellten Trichocysten erhalten sich daher weiter (vgl. Verworn 103, S. 102; Mitrophanow 86, S. 88).

IV. Die contractilen Vacuolen.

Die Morphologie der contractilen Vacuolen ist bisher noch nicht genügend untersucht worden, da es an Mitteln zu ihrer Konservierung fehlte. Alle bisher angewandten Fixierungsflüssigkeiten veränderten die osmotischen Verhältnisse in dem Zellkörper dermaßen, daß ein Zerfließen der contractilen Vacuole eintrat und daher die morphologischen Eigentümlichkeiten sich mit dem Aufquellungsprozeß des Zelleibes total veränderten und dabei ganz verschwanden. Nur nach Lebenduntersuchung haben wir historische Hinweise über den Bau der contractilen Vacuole. Die ursprünglichen Beobachtungen von Ehrenberg, Wiegmann[1]), Claparède (20, S. 404), Lachmann (17, S. 379), Siebold[2]) und Lieberkühn (57, S. 26) haben zur Annahme geführt, daß die Inhaltsflüssigkeit der contractilen Vacuole im Zellplasma zirkuliere und sie selbst ein Zirkulationsorgan, dem Blutgefäßsystem der höheren Tiere ähnlich, bilde. Weitere Arbeiten von O. Schmidt[3]), Zenker (111, S. 336), Schwalbe (95, S. 355),

[1]) [2]) [3]) Citiert nach Schwalbe, Wrześniowski, Zenker, Bütschli u. a.

Wrześniowski (108, 109, 110), Stein (98), Bütschli (8), Maupas (63), Fabre-Domergue (36, S. 18), Rhumbler (88, S. 558), Blochmann (4, S. 90) haben das Vorhandensein eines besonderen Porus bei verschiedenen Infusorienarten festgestellt, durch den die Entleerung der contractilen Vacuole nach außen erfolgt. Wo es nicht gelingen wollte, die Existenz eines ausführenden Kanals zu beweisen, wurde eine unmittelbare Entleerung der Vacuolenflüssigkeit nach außen durch eine einfache Öffnung in der Pellicula angenommen. Zenker (111, S. 336) beobachtet bei *Bursaria* „in der Mitte der Blase, deren Bild ein Kreis ist, einen kleineren Kreis mit scharfen Rändern, die sich im schiefen Licht besonders deutlich zeigen, der bläulich-grau erscheint“ und welchen er als Porus deutet. Wrześniowski (108, S. 370) beschreibt den Ausführungskanal, der als eine kleine Röhre in schiefer Richtung von der Oberfläche der Pellicula abgeht, von zwei Konturen begrenzt ist und mit einer kreisrunden Öffnung nach außen mündet. Bei der Diastole ist der Kanal dort, wo er an der Vacuole liegt, merklich erweitert; bei der Kontraktion hebt er sich in die Höhe, erweitert sich in seinem äußeren Teil und weist gleich die Entleerung der Vacuole nach außen auf. Bütschli stellt für gewisse Ciliaten einen Ausführungskanal in Form einer Röhre fest, durch den die Vacuolenflüssigkeit entleert wird; bei *Paramaecium* insbesondere konstatiert er einen Porus: „jeder Porus erscheint gewöhnlich als ein sehr kleines, von einem dunklen Randsaum umzogenes und im Innern lichtes Kreischen. Die Helligkeit des Innern rührt von der Durchbrechung der Pellicula und Alveolarschicht her (8, S. 1420). Kölsch (50, S. 384) beschreibt ein kompliziertes Bild, das er einmal beim Zerfließen des Plasmas erhalten hat: in dem Plasma war deutlich eine trichterförmige Röhre zu sehen, die von der Oberfläche aus nach innen ging und mit einer Öffnung endete.

Von den Amöben bis hinauf zu den Vorticellen kann man eine ganze Reihe von Übergangsformen der contractilen Vacuolen feststellen. Bei ersteren haben sie keine bestimmte Lage, sondern bilden sich an verschiedenen Stellen des Körpers, ihre Pulsation ist nicht gleichmäßig rhythmisch, und sie entleeren sich durch eine einfache Ruptur der äußeren, sich allmählich verdünnenden Plasmaschicht. Bei den Flagellaten stellt Bütschli (9) Übergangsformen fest: bei den einen nähern sich die contractilen Vacuolen in ihren Eigenschaften denen der Amöben; die übrigen Flagellaten besitzen konstant gelagerte Vacuolen mit rhythmischer Pulsation. Für die Ciliaten gilt dasselbe; die Vacuole funktioniert rhythmisch und periodisch und öffnet sich nach außen entweder durch eine einfache

Öffnung oder durch einen Kanal. In allen Fällen wird die Inhaltflüssigkeit der Vacuole nach außen befördert, wie es von Jennings (47, S. 456—457) auch experimentell erwiesen wurde. Die physiologische Tätigkeit der contractilen Vacuole wird verschieden aufgefaßt: die einen halten sie für ein Excretionsorgan (Stein, Schwalbe, Brandt, Carter, Wrześniowski), die anderen für ein Respirationsorgan (Schmidt, Rossbach). Bütschli (8, S. 1411) sieht die Hauptbedeutung der contractilen Vacuole im Respirationsprozeß, obwohl er auch die Möglichkeit der Ausleitung aufgelöster Ausscheidungsprodukte nicht leugnet. Dieser Ansicht schließt sich Maupas an (63, S. 648), ebenso Fabre-Domergue (36, S. 69—71), Haeckel[1]), Rhumbler (88, S. 557—558). Degen (26, S. 200) betrachtet die Tätigkeit der contractilen Vacuole in Verbindung mit den osmotischen Erscheinungen und schreibt ihr mannigfache physiologische Funktionen zu. Ihre Hauptfunktion erblickt er darin, den Zelleib vor Überfüllung mit Wasser und vor dem Zerfall infolge des steigernden inneren Druckes zu schützen. Ihre Nebenrolle besteht nach Degen in Respirations-, Excretions- und möglicherweise auch Zirkulationswirkungen. Endlich bringt Kanitz (51, S. 15) die Funktion der contractilen Vacuole mit den allgemeinen chemischen Prozessen der Zelle in Verbindung.

Diese Mannigfaltigkeit der gegensätzlichen und einander oft ausschließenden Meinungen über die physiologische Funktion der contractilen Vacuole hat ihren Grund im Mangel positiver Kenntnisse über die allgemeine Morphologie und Struktur der contractilen Vacuole. Es ist mir gelungen, diesen Mangel in geringem Grade zu beheben, indem meine Fixierungsmethode es möglich macht, die Vacuole in ihren verschiedenen Tätigkeitsstadien zu konservieren und ihre histologische Struktur auf Schnitten festzustellen. Wenn man von nach M. I fixierten Paramäcien ein Totopräparat herstellt, so erscheinen die contractilen Vacuolen in aufeinanderfolgenden Stadien konserviert. Nach der Bearbeitung mit salpetersaurem Silberoxyd sieht man die contractilen Vacuolen als helle Bläschen auf einem orange-gelben Hintergrund deutlich. Starke Niederschläge von Silberbromat (AgBr) in den Nahrungsvakuolen verdunkeln oft das Bild; um dies zu vermeiden, muß man die Paramäcien vor der Fixierung 3—6 Stunden in einem Thermostat bei 30° C belassen. Im Kapitel über die Nahrungsvacuolen werden wir später erfahren, daß unter diesen Verhältnissen die Nahrungsvacuolen mit großer

[1]) Citiert nach Bütschli und Fabre-Domergue.

Schnelligkeit ihren physiologischen Cyclus durchlaufen und daß die neugebildeten Vacuolen fast keine Nahrungsmittel enthalten. Nach dieser vorbereitenden Temperaturwirkung bildet das Silberbromat im ganzen Entoplasma einen körnigen Niederschlag; in den Nahrungsvacuolen dagegen findet sich fast kein Niederschlag. Die Details und Eigentümlichkeiten der Struktur werden durch Schnitte nach M. II a, b, c ergänzt.

Über jeder der beiden contractilen Vacuolen bildet die Pellicula eine äußerliche Einsenkung (Invaginatio pulsatoria), die im optischen Querschnitt die Form eines in die Vacuole einragenden Trichters hat. In Flächenansicht hat diese Einsenkung die Gestalt einer runden durchsichtigeren Vertiefung, auf deren Boden deutlich ein schmales, ganz helles Kreischen zu sehen ist (Taf. II Fig. 31). Dasselbe Bild kann man auch im Leben sehen, wahrscheinlich haben frühere Forscher dieses Kreischen für eine Öffnung oder einen Porus gehalten; in Wirklichkeit ist diese Erscheinung durch die optischen Eigenschaften dieser anatomischen Einsenkung zu erklären. Aus der ganzen Serie der von mir in großer Zahl hergestellten Schnitte in den verschiedensten Richtungen und Stadien der contractilen Vacuole habe ich unwiderleglich festgestellt, daß die Vacule keinerlei Öffnung oder Porus nach außen weist, sondern daß die Pellicula als eine ununterbrochene Schicht die contractilen Vacuolen bedeckt (Taf. II Fig. 36—41). Die äußere pelliculare Einsenkung geht in einen engen Kanal mit dichtem Boden über, der besonders deutlich im Anfangsstadium der Diastole zu sehen ist (Taf. II Fig. 34—40). Unmittelbar unter dem Kanal sammeln sich allmählich Flüssigkeitströpfchen — Bildungsvacuolen — an, die durch ihren Zusammenfluß die pulsierende Vacuole selbst bilden (Taf. II Fig. 34—36). Diesem Stadium, das auf Querschnitten gegeben ist, entspricht der horizontale Schnitt (Taf. II Fig. 32) durch die contractile Vacuole, an welchem die im Centrum liegenden Bildungsvacuolen vorzubemerken sind. Diese anatomischen Verhältnisse bei der Neubildung der pulsierenden Vacuole machen die Annahme einer besonderen, die Vacuole umgrenzenden Membran unmöglich. Man könnte sie als völlig abgetan bezeichnen, wenn Degen die alten Anschauungen über die contractile Membran nicht wieder aufgefrischt hätte. Die Bedingungen, unter denen die Bildungsvacuolen und Zuführungskanäle zusammenfließen, schließen die Möglichkeit einer solchen Membran völlig aus, denn jede neue contractile Vacuole ist eine Neubildung und hat mit der früheren nichts gemein (vgl. Bütschli 8, S. 1412). Auf allen Stadien der contractilen Vacuole, von dem ersten Moment ihrer Bil-

dung bis zum Moment ihrer Entleerung, ist nie eine morphologisch differenzierte Membran zu beobachten. Das Bläschen der contractilen Vacuole grenzt sich von dem umgebenden Plasma und von den Flüssigkeitströpfchen nur durch ein Oberflächenhäutchen ab, welches sich nach den Gesetzen der Molekularphysik bildet.

Durch den allmählichen Druck der sich ansammelnden Flüssigkeit werden die Plasmalamellen, die sich zwischen den einzelnen Bildungsvacuolen und Zuführungskanälen befinden, gesprengt und letztere fließen bei ihrer Berührung in eine gemeinsame Vacuole zusammen. Die neugebildete Vacuole nimmt weiter an Umfang zu.

An der Flächenansicht hat die contractile Vacuole während der Diastole die Form einer runden Blase, nur im Augenblick der Vereinigung mit neuen Flüssigkeitsvacuolen ändert sich ihre Form vorübergehend. Soweit es sich aber nach Schnitten des unteren Teiles der contractilen Vacuole beurteilen läßt, hat sie sehr ungleichmäßige Grenzen, da der Druck des umgebenden Plasmas die Vertiefungen und Eindrückungen hervorruft. Die stetigste und am meisten charakteristische Deformation ist im vertikalen Durchmesser der Vacuole zu bemerken. Während die horizontalen Durchmesser gleich sind und die Vacuole daher kreisförmig erscheint, ist der vertikale Durchmesser immer kleiner. Die Vacuole erscheint daher in proximal-distaler Richtung gleichsam abgeplattet. Diese Erscheinung ist eine allgemeine und durchaus nicht zufällige; sie weist auf einen Druck hin, dem die contractile Vacuole seitens des Plasmas in der Richtung nach außen unterworfen ist. Auch der Zustand der pellicularen Einsenkung auf den verschiedenen Pulsationsstadien bestätigt des Vorhandensein dieses inneren Druckes. Mit der allmählichen Vergrößerung der contractilen Vacuole und unter der Druckeinwirkung beginnt der Kanal der pulsatorischen Einsenkung sich zu erweitern und der Boden des Kanals wölbt sich allmählich vor. Die Richtung der der contractilen Vacuole zunächst liegenden Trichocysten weist klar auf das Vorhandensein von Kräften hin, die vom Kanal als Centrum radialwärts wirken, da die freien Enden der benachbarten Trichocysten — von ihrem Befestigungspunkt in der Pellicula aus gerechnet — seitlich vom Kanal verschoben sind (Taf. II Fig. 42—45; Taf. III Fig. 46—50). Gleichzeitig mit der Erweiterung muß auch die Tiefe des Kanals abnehmen. Auf unseren Zeichnungen lassen sich die aufeinanderfolgenden Stadien dieses Prozesses bis zum völligen Verschwinden der ganzen pulsatorischen Einsenkung verfolgen.

Wenn der Prozeß der Erweiterung und Hebung der pulsatorischen



Einsenkung eine gewisse Stufe erreicht hat, bildet sich auf dem Boden des Kanals eine besondere Ausstülpung (Taf. II Fig. 39—40), die anfänglich die Gestalt eines kleinen horizontalen Plättchens hat und allmählich sich nach außen vorzuwölben beginnt und eine horizontale Papilla pulsatoria skizziert (Taf. II Fig. 42—45; Taf. III Fig. 46 u. 47).

Mit der zunehmenden Erweiterung der pulsatorischen Einsenkung wächst auch die Papille in horizontaler und verticaler Richtung und, wenn die pulsatorische Einsenkung beinahe verstrichen, bleibt die Papille erhalten. Sie bildet einen äußeren Vorsprung, der sich über die allgemeine Oberfläche erhebt (Taf. III Fig. 48 bis 50). Die Figuren lassen ersehen, daß dort, wo die Papilla sich erst bildet, das Corticalplasma fehlt und das subpelliculare Plasma nur als eine dünne Schicht erhalten bleibt. Nach Mallory'scher Färbung sieht man unter der violett-roten Pellicula einen dünnen blaugrünen Streifen der subpellicularen Schicht, die auf späteren Stadien, wo die Papille gut ausgebildet ist, sich jeder Beobachtung entzieht. Die Papille besteht in der Hauptmasse aus der Pellicula, die an dieser Stelle, wie man sagen kann, unmittelbar die contractilen Vacuolen bedeckt.

Der dünne pelliculare Boden der pulsatorischen Einsenkung erklärt zur Genüge den optischen Effekt eines hellen Kreischen auf dunklerem Hintergrunde der contractilen Vacuole, die mit einer dickeren Schicht der Pellicula und des Ectoplasmas bedeckt ist. Aus der histologischen Struktur des Kanals sind auch die mechanischen Bedingungen der notwendigen Bildung der Papille vollkommen zu erklären. Bei einer bestimmten Breite des sich erweiternden Kanals gibt die feine pelliculare Bodenwand leichter und rascher dem Druck der Vacuole nach als seine Seitenwand, und bildet eben die Papille. Das Stadium der über die Körperoberfläche vorgewölbten Papille ist die letzte des Vorgangs, die ich auf den Präparaten beobachtet habe. Auf diesem Stadium vollzieht sich die Entleerung der Vacuole nach außen, und ihr folgt die Systole, die Entleerung und die Neubildung der pulsatorischen Einsenkung. Die Entleerung der Vacuole, d. h. das Austreten der Vacuolenflüssigkeit nach außen, kann nur bei einem bestimmten Grad der Spannung der pulsatorischen Papille eintreten.

Die contractile Vacuole der Paramäcien gehört zum zweiten Typus der Vacuolen, zu denjenigen, die Zuführungskanäle aufweisen. Wie auf Querschnitten zu sehen ist, gehen unter dem Corticalplasma mehr oder weniger regelmäßig nach beiden Seiten Zuführungskanäle

ab (Taf. II Fig. 35—45; Taf. III Fig. 46—50). Auf einigen Präparaten ließ sich die Fortsetzung dieser Kanäle auf ziemlich großer Entfernung verfolgen. Paramäcium hat gewöhnlich 8 Kanäle, die von der contractilen Vacuole in radialer Richtung abgehen (Taf. II Fig. 32—33). Bei starken Vergrößerungen kann festgestellt werden, daß die Kanäle auf einigen Stadien eine vacuoläre Struktur haben, indem die Flüssigkeit in feinen Vacuolen sich sammelt und zu einem gemeinsamen strahlenförmigen Strom sich vereinigt. Die Oberfläche der Vacuole ist stets von einer Menge kleiner Vacuolen bedeckt, die zwischen den Strahlen liegen; in dem umgebenden Plasmaraum sind ebenfalls viel Vacuolen zu sehen (Taf. II Fig. 33) Auf Querschnitten ist deutlich zu sehen, daß die contractile Vacuole im Stadium der Diastole nicht nur im Gebiet der Zuführungskanäle von Nebenvacuolen umringt ist, sondern auch in ihrem inneren Teil, so daß die Zuführungskanäle nicht allein die ganze Flüssigkeit für die contractilen Vacuolen liefern: diese tritt vielmehr von allen Seiten zur contractilen Vacuole heran (Taf. II Fig. 37—45; Taf. III Fig. 46—47). Auf Grund der angeführten Tatsachen kann ein allgemeines Schema der contractilen Vacuole entworfen werden. Beginnen wir mit dem Augenblick der größten Ausstülpung der Papille, wenn die Entleerung vor sich geht. Im nächsten Moment nach der Entleerung wird ein Zusammenfallen sowie die Bildung der typischen pulsatorischen Einsenkung eintreten. Durch den Zusammenfluß der centralen Bildungsvacuolen und der Zuführungskanäle bildet sich eine neue Vacuole, die allmählich an Umfang zunimmt. Die neugebildete Vacuole übt auf die pulsatorische Einsenkung einen Druck aus und ruft ihre Erweiterung und Hebung hervor. Auf einem bestimmten Niveau bildet sich die pulsatorische Papille, der Vacuolendruck nimmt zu, die Erweiterung der pulsatorischen Einsenkung auch, es vollzieht sich eine Abflachung der Einsenkung und der Prozeß schließt mit der Bildung der äußeren Papille — Schluß der Diastole. Im nächsten Augenblick tritt die Systole ein und der Prozeß beginnt von neuem mit der Diastole.

Einfluß der Temperatur auf die contractilen Vacuolen.

Wenden wir uns zu den experimentellen Untersuchungen über die Einwirkung äußerer Faktoren auf den Charakter und Geschwindigkeit der Pulsation der Vacuole. Alle möglichen Veränderungen in den Lebensbedingungen des Organismus betreffen entweder die physische oder chemische Seite. Zur ersten Kategorie gehören die

Veränderungen der Temperatur, des atmosphärischen Drucks, des Lichts und die Wirkung des elektrischen Stroms; die zweite Kategorie bilden die Veränderungen in der Zusammensetzung der flüssigen Umgebung.

Der Einfluß der Temperatur auf die Pulsation der Vacuole wurde von Rossbach, Maupas, Bütschli, Degen und Kanitz untersucht. Alle Autoren fanden einstimmig eine Zunahme der Pulsfrequenz mit der Erhöhung der Temperatur; dabei sind Bütschli (8, S. 1454), Rossbach (87, S. 33), Degen (26, S. 167) zu dem gleichen Ergebnis gelangt, daß bei niedrigen Temperaturen die Zunahme der Pulsgeschwindigkeit rascher vor sich geht, als bei höheren Temperaturen; die Grenztemperatur der höchsten Pulsgeschwindigkeit liegt nach ihren Beobachtungen bei 35° C. Im besonderen stellt Rossbach (87, S. 34) die Unabhängigkeit der Pulsfrequenz von der Geschwindigkeit der Temperaturerhöhung fest. Degen (26, S. 167) hat eine Kurve der Zunahme der Pulsfrequenz infolge der Temperaturerhöhung für *Glaucoma* festgestellt. Nach Degen verlangsamt sich der Puls bei niedrigen Temperaturen bis + 3° C durch die Verlangsamung der Diastole, von + 3° C bis + 17° C wächst die Pulsfrequenz rasch und regelmäßig, von 17° bis 34° C wächst sie langsamer; bei Temperaturen über 34° C wächst sie unbedeutend und fällt dann rasch bis zum völligen Stillstand. Degen beschreibt die Begleiterscheinung — die Dilatation der contractilen Vacuole in der Diastole. Bei Temperaturen über 34° C ist die Dilatation von einer Verlangsamung des Pulses begleitet; das Maximum der Pulsfrequenz liegt vier Grad höher, als die für den Organismus nach gewisser Zeitlang „tötende und giftige Temperatur".

Kanitz (51, S. 15) betrachtet die Erhöhung der Pulsfrequenz vom Standpunkt des Gesetzes über die Geschwindigkeit der chemischen Reaktionen in Abhängigkeit von der Temperatur und findet, daß in gewissen Grenzen der Temperatur die Geschwindigkeit der Pulsation verzweifacht bis verdreifacht sich von je 10° C, wie bei den chemischen Reaktionen. Daraus folgert Kanitz, daß die Pulsation der Vacuole von chemischen Prozessen des Organismus abhängig ist.

Meine Experimente über den Einfluß der Temperatur auf die Paramäcien habe ich unter Zuhilfenahme eines besonderen im Heidelberger Laborotarium vorhandenen Thermostatkasten ausgeführt, der von Herrn Geh. Medizinalrat Pfeiffer in Weimar konstruiert wurde. Die Beobachtungen habe ich bei einer Temperatur von 16° C begonnen und erhöhte sie alle 2—3 Stunden um je einen Grad.

Eine gewisse Zahl von Paramäcien wird nebst Fäulnisprodukten unter dem Deckgläschen untergebracht und um zu verhüten, daß das Deckgläschen auf die Paramäcien drücke, erwies es sich als notwendig, Füßchen anzubringen. Doch stellte es sich heraus, daß die Paramäcien sich dabei rasch bewegen und daher die Beobachtungen der Pulsation erschwert werden; deshalb entschloß ich mich, die tigmotaktischen Erscheinungen bei den Paramäcien zu benutzen um sie unbeweglich zu machen (Pütter 83). Auf experimentellem Wege habe ich festgestellt, daß die Tigmotaxis in unmittelbarem Zusammenhang mit den intramolekularen Erscheinungen des umgebenden Wassers steht. Es ist mir gelungen, auf folgende Weise die Abhängigkeit der Tigmotaxis von den Veränderungen der Oberflächenspannung festzustellen. In einem hängendem Wassertropfen von sehr geringem Radius bewegen sich die Paramäcien gewöhnlich auf der äußeren Tropfoberfläche, in die inneren Regionen des Tropfens gelangen sie nicht. Mit der Vergrößerung des Durchmessers und mit der Abflachung des Tropfens ändern die Paramäcien den Charakter ihrer Bewegung und bei einer bestimmten Änderung der Oberflächenspannung schwimmen sie frei im ganzen Tropfen umher. Diese Tatsache beweist, daß die Oberflächenspannungskräfte die tigmotaktischen Bewegungen der Paramäcien hervorrufen können. Wenn man einen kleinen Wassertropfen unter ein Deckglas bringt und die Stärke der Wasserschicht ändert, so ändern sich auch die Bewegungen der Paramäcien in entsprechender Weise. Bei einer Schicht von 1 mm Stärke bewegen sich die Paramäcien ganz frei, tigmotaktische Erscheinungen fehlen entweder ganz oder sie treten nur in ganz schwachem Grad auf; bei einer Verringerung der Dicke der Wasserschicht verlangsamen sich die Bewegungen der Paramäcien und die tigmotaktischen Erscheinungen treten öfter und deutlicher auf. Auf experimentellem Wege habe ich festgestellt, daß bei einer Wasserschicht von 0,25—0,20 mm die Paramäcien sich sehr langsam und träg bewegen und schließlich bei tigmotaktischer Berührung mit einem Fremdkörper ganz stehen bleiben. In diesem Fall sind es zweifellos die Veränderungen der Molekularkräfte des Wassertropfens, die die tigmotaktischen Erscheinungen bei Paramäcien hervorrufen und verstärken. Je dünner die Wasserschicht, desto größer ist die obere und untere Tropfenfläche und desto dünner die Zwischenschicht und geringer ihre intramolekulare Beweglichkeit. Bei weiterer Verdünnung der Wasserschicht treten bereits solche Erscheinungen auf, die eine unmittelbare Berührung der Cilien mit den unbeweglichen Wasserschichten beweisen; es tritt eine

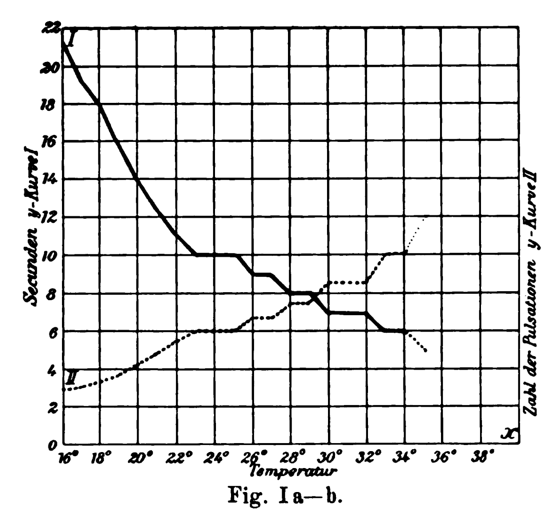


Fig. Ia—b.

Die Kurven der Veränderung des Pulses von der Temperatur.

T° C	I. Sekunden	II. Zahl der Kontraktionen in einer Minute
16°	21	2,86
17°	19	3,16
18°	18	3,33
19°	16	3,75
20°	14	4,29
21°	12,5	4,81
22°	11	5,5
23°	10	6
24°	10	6
25°	10	6
26°	9	6,66 . . .
27°	9	6,6 . . .
28°	8	7,5
29°	8	7,5
30°	7	8,55 . . .
31°	7	8,55 . . .
32°	7	8,55 . . .
33°	6	10
34°	6	10
35°	5 (vermutlich)	12
36°		

Die quantitativen Größen der Pulsveränderungen bei Temperaturerhöhung sind als mittlere Größe der einzelnen Messungen, die an 143 Paramäcien 876 mal gemacht worden waren, ausgeführt worden.

Die erste I Kurve ist für die Dauer des Pulses in Sekunden zwischen den zwei aufeinanderfolgenden Kontraktionen konstruiert, die zweite II Kurve bildet die Veränderung der Zahl der Kontraktionen in einer Minute (Pulsfrequenz).

mechanische Erschwerung der Bewegung und ein Abplatten der Paramäcien infolge des Drucks ein. Diese Beobachtungen über die Eigentümlichkeit der Tigmotaxis bei den Paramäcien habe ich für die physiologischen Experimente über den Einfluß der Temperatur benutzt, ebenso wie auch bei den vitalen Untersuchungen der Nahrungsvacuolen. Das Optimum der Tigmotaxis erreichte ich dadurch, daß ich Stückchen Schreibpapier, das die erforderliche Dicke von 0,20—0,25 mm besaß, als Füßchen für das Deckgläschen verwandte. Die Paramäcien weisen dann alle Erscheinungen der Tigmotaxis auf und lassen sich sehr gut beobachten. Sie bleiben sehr lange, bis zu einigen Stunden auf einem Platz stehen, und die Beobachtung aller Prozesse war sehr leicht und bequem. Gleichzeitig mit den Experimenten über den Einfluß der Temperatur auf die contractilen Vacuolen wurde eine vitale Färbung mit Neutralrot vorgenommen, zum Zwecke der Untersuchung der mit der Verdauung verbundenen Prozesse. Dank der vitalen Färbung ist es mir gelungen, einige Beziehungen zwischen den Nahrungsvacuolen und dem Charakter der Pulsation klar zu legen.

Die allgemeinen Veränderungen der Pulsation bei der Temperaturerhöhung finden ihren Ausdruck in der Acceleration der Pulsfrequenz. Die Pulsfrequenz steigt von 16° bis 23° C sehr rasch, von 23° bis 33° C ist die Zunahme der Pulsfrequenz langsamer, jedoch regelmäßig, wobei bis zu 37° C eine Zunahme der Frequenz bei einzelnen Individuen zu bemerken ist, bei der großen Mehrzahl findet jedoch eine Verlangsamung des Pulses und eine Störung seines Rhythmus statt. Diesen Veränderungsprozeß des Pulses kann man auf vorstehenden Kurven beobachten (Textfig. I a—b).

Bei 30° C verlassen die Paramäcien ihren gewöhnlichen Platz neben den Nahrungshäufchen und gruppieren sich neben verschiedenen mikroskopischen Gegenständen; die Nahrungsvacuolen enthalten fast keine Nahrungsmittel mehr, obwohl ihre Weiterbildung nicht unterbrochen wird. Die Nahrungsvacuolen bestehen dann nur aus Wasser. Die Geschwindigkeit ihrer Bildung bleibt normal, dafür aber gewinnen sie an Umfang. Die contractilen Vacuolen zeigen bei 30° C eine merkliche Umfangsvergrößerung in der Diastole, die Dilatation der Vacuole ruft trotzdem keine Verlangsamung der Pulsfrequenz hervor, sondern die Pulsgeschwindigkeit wächst auch bei weiterer Temperaturerhöhung. Gleichzeitig mit der Dilatation der contractilen Vacuole erweitern sich die Zuführungskanäle, auch bilden sich an ihnen oft rosenkranzähnliche Erweiterungen (Textfig. II a), letztere können ziemlich bedeutende Dimensionen erlangen und dann bilden

sich neben der Hauptvacuole aus solchen Kanalerweiterungen die accessorischen Vacuolen (Textfig. II b, c) von kleinerem Durchmesser. Anfänglich sind in den so gebildeten Hilfsvacuolen synchronische, aber umgekehrt laufende Pulsationen zu bemerken, da bei der Bildung der Hauptvacuole und bei ihrem Wachstum die Hilfsvacuolen sich im Umfang verringern und während der Systole der Hauptvacuole an Umfang zunehmen. Der Synchronismus der umgekehrt laufenden Pulsation der Hilfsvacuole weist auf ihren passiven Mechanismus hin: er hängt ab von den Veränderungen des Druckes in den Zuführungskanälen bei den verschiedenen Pulsationsstadien der Hauptvacuole. Nach Verlauf von einiger Zeit beginnt aber die Hilfsvacuole fast mit derselben Geschwindigkeit, wie die Hauptvacuole selbständig zu pulsieren. Es kann sich vor und hinter jeder Hauptvacuole je eine Hilfsvacuole bilden. Der Bildungsprozeß der Hilfsvacuolen und der rosenkranzähnlichen Erweiterungen beginnt bei 28° C, tritt aber erst bei 30° C mit größter Deutlichkeit und Allgemeinheit auf und weist augenscheinlich auf einen verstärkten Zufluß von Flüssigkeit in den contractilen Vacuolen hin.

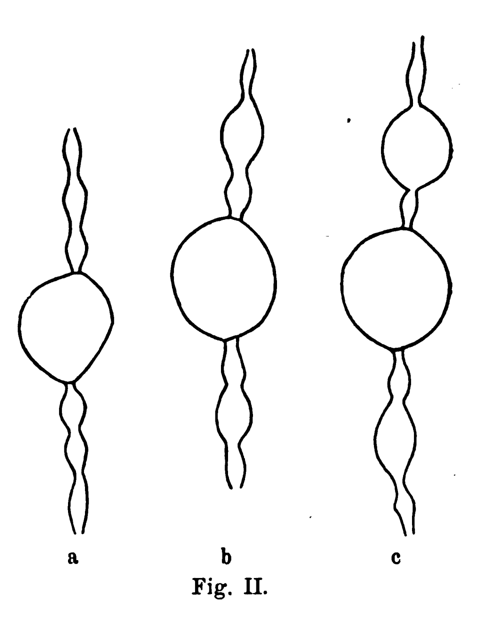


Fig. II.

Bei einer Temperaturerhöhung über 30° C entwickelt sich der oben beschriebene Prozeß weiter in derselben Richtung, indem eine Zunahme der Pulsfrequenz und eine größere Dilatation der contractilen Vacuole auftritt. Vom 35° bis 37° C wird der Puls ungleichmäßig; die Dilatation erreicht einen hohen Grad, die Systole ist oft unvollständig. Nach 37° C wird der Puls plötzlich langsam, die Diastole geschieht rasch, die Systole dagegen langsam und hört bald ganz auf; die contractile Vacuole beharrt auf dem Stadium der dilatierten Diastole. In der Vacuole selbst lassen sich kleine Schwankungen des Umfangs beobachten; sie erzittert in bestimmten Momenten. Über 40° C hinaus beginnt im Laufe einiger Minuten ein rasches und gleichzeitiges Absterben der Paramäcien.

Der ganze Prozeß der Veränderungen der contractilen Vacuole erscheint somit folgendermaßen. Bei niedrigen Temperaturen unter + 3° C geht — nach den Experimenten Degen's zu urteilen — eine Verlangsamung der Pulsation infolge der Verlangsamung der Diastole vor sich. Bei Erhöhung der Temperatur bis 30° C nimmt die Diastole an Geschwindigkeit zu, der Puls acceleriert regelmäßig und die Vacuole hat in bestimmten Grenzwerten der Temperatur einen normalen Umfang. In diesem Fall ist die Pulsfrequenz eine Funktion von der Geschwindigkeit der Diastole, d. h. des Zuflusses der Flüssigkeit. Von 30° C an beginnt der Vacuolenumfang zu wachsen, was von einem Überschuß an Druck in der Vacuole zeigt: in der Vacuole bildet sich ein für die Ausstülpung der pulsatorischen Papille genügender Druck (p_s) und noch ein weiterer Druck, der die Dilatation der Vacuole (p_w) hervorruft: $P_v = p_s + p_w$ .... (*1*).

Mit weiterer Temperaturerhöhung vergrößert sich der Überschuß-Druck (p_w), der einerseits die Zunahme der Dilatation hervorruft, andererseits die Systole hemmt, indem er dem raschen Zusammenfallen der pulsatorischen Einsenkung entgegenwirkt. Die Systole wird dadurch langdauernd und ungleichmäßig, und, wenn der überschüssige Druck eine bestimmte Größe erreicht, macht es, das systolische Zusammenfallen der pulsatorischen Einsenkung überhaupt unmöglich ist. Die pulsatorische Einsenkung vermag sich nicht mehr zu bilden, die Papilla bleibt ausgestülpt, es tritt ein Stadium von dauernder Diastole ein. Unter diesen Umständen kann der Austritt der Vacuolenflüssigkeit nach außen ungehindert sich vollziehen; dieser letztere wird dadurch bestätigt, daß die Paramäcien auch nach dem Erlöschen der Pulsation noch lange leben, während nach der Einstellung der Flüssigkeitsentleerung ein Platzen der Paramäcien infolge des steigenden inneren Wasserdrucks eintreten würde. Der Tod der Paramäcien überhaupt erfolgt nicht durch die Ruptur des Zelleibes, sondern infolge der pathologischen Veränderungen des Plasmas.

Aus der Vergleichung der qantitativen Feststellungen folgt, daß die Pulsfrequenz (v_p) von 16° C bis 25° C sich verdoppelte — 2,86 : 6 = 2,1 (Textfig. I a, b); von 26° C bis zu 34° C fast verzweifacht — 6 : 10 = $1^2/_8$, vermutlich bis 36° C sich genau verzweifacht. Nach Degen nahm die Steigerung der Pulzfrequenz im Laufe der ersten 10 Grad von + 3° C bis 13° C mehr als viermal zu, von 13° C bis 23° C = 2,5 mal, von 23° C bis 33° C = $1^3/_5$ mal. Analoge Daten hat Kanitz bei verschiedenen Infusorien gefunden. Die Geschwindigkeit der Flüssigkeitsbildung und Flüssigkeitszuflusses, welche alle Veränderungen

in der Pulsation hervorruft, ist ungefähr dem Gesetz über die Geschwindigkeitszunahme der chemischen Reaktionen bei Temperaturerhöhung unterworfen. Die Abweichungen von diesem Gesetz können einerseits von den Eigentümlichkeiten aller biologischen sich in bestimmten Grenzwerten bewegenden Reaktionen, andererseits durch die Kompliziertheit der chemischen Reaktionen zwischen den Stoffen des Zellkomplexes erklärt werden. Das Gesetz über die Geschwindigkeitszunahme der chemischen Reaktionen, welches lautet, daß auf je zehn Grad die Reaktionsgeschwindigkeit sich verzweifacht bis verdreifacht, ist mit voller Genauigkeit nur auf die irreversibilen Reaktionen gültig, und auch das nur in bestimmten Temperaturgrenzen. Die relative Genauigkeit und ungefähre Übereinstimmung mit dem erwähnten Gesetz beweist, daß die Pulsationsgeschwindigkeit und der Flüssigkeitszufluß in engstem Zusammenhang mit den chemischen Prozessen in der Zelle steht. Das Verhältnis der Pulsation zum Chemismus der Zellenstoffe kann nicht so aufgefaßt werden, wie es Kanitz tut; er hält die Pulsationserscheinung für das Hauptmerkmal der chemischen Prozesse und erklärt sie für abhängig von der Periodizität einiger chemischen Reaktionen. Die Vacuolenpulsation, als die Tatsache der gegenseitigen Ablösung zweier Phasen der Systole und Diastole ist nur durch anatomische Eigentümlichkeiten der Struktur der Vacuole und durch die Schwankungen des Drucks zu erklären. Die Unabhängigkeit des Pulsationsprozesses selbst vom Chemismus der Zellenstoffe erhellt schon daraus, daß mit dem Aufhören der Pulsation, d. h. mit dem Aufhören des systolischen Zusammenfallens der pulsatorischen Einsenkung, die Flüssigkeitsausscheidung bestehen bleibt und dem Gesetz der chemischen Reaktionen folgt, wovon die Dilatation der Vacuole und Zuführungskanäle zeugt. Nur die Geschwindigkeit der Pulsation, solange sie nach anatomischen und physikalischen Verhältnissen möglich ist, ist die Funktion der Temperatur, ebenso wie die Geschwindigkeit der chemischen Reaktionen.

Einfluß des mechanischen Drucks auf die contractilen Vacuolen.

Die Verlangsamung der Pulsfrequenz und ihr völliges Stillstehen bei der Steigerung des äußeren Drucks wurde schon von Zenker (111, S. 337), Schwalbe (95, S. 363—364), Bütschli (8, S. 1449), Kölsch (50, S. 353), Degen (26, S. 174—175) beobachtet. Bei meinen Experimenten mittels Deckglasdrucks habe ich ähnliche Resultate wie die obengenannten erhalten. Wenn die pulsatorische

Einsenkung sich beim Niederdrücken in horizontaler Ebene befindet, so geht die Verlangsamung und der Stillstand des Pulses auf dem Stadium der Diastole rasch vor sich. Diese Tatsache ist leicht begreiflich, da sich unter diesen Umständen keine Papille bilden kann. Wenn aber die contractile Vacuole seitlich zwischen den zwei sie zusammenpressenden Flächen liegt, so vollzieht sich die Verlangsamung und der Stillstand des Pulses infolge der Störung des Bildungsmechanismus der Papille, da eine Erweiterung der pulsatorischen Einsenkung nicht stattfinden kann.

Die Experimente von Kölsch (50, S. 395—396) mit Vakuumwirkung stimmen mit dem Pulsationsmechanismus überein. Im Anfangsmoment der allmählichen atmosphärischen Druckverringerung nimmt die Pulsfrequenz bei normaler Diastole zu. Mit steigendem Vakuum bleibt der Puls stehen; es tritt eine Vacuolendilatation und schließlich eine Vorwölbung der ganzen Vacuole nebst Deckschichten ein. Die Verringerung des äußeren Druckes erleichtert die Bildung der Papille und beschleunigt den Puls, aber wenn der Druck bis zu einer bestimmten Größe herabsinkt, so hemmt er die Bildung der pulsatorischen Einsenkung und die Papille bleibt in steter Spannung. Unter Einwirkung des Vakuums steigt auch der Flüssigkeitszufluß, es findet eine Dilatation der Vacuole und ein permanentes Diastolestadium statt. Der darauffolgende Ausstülpungsprozeß der ganzen Vacule bestätigt den beschriebenen Mechanismus wirkender Kräfte, die den Stillstand der Pulsation hervorrufen.

Osmotische Erscheinungen.

Den osmotischen Prozessen in der Infusorienzelle hat Degen seine besondere Aufmerksamkeit zugewendet und auf ihnen seine Hypothese über die Tätigkeit der contractilen Vacuole aufgebaut, wobei er eine Reihe interessanter Tatsachen und Beobachtungen über den Einfluß des osmotischen Druckes auf Charakter und Geschwindigkeit der Pulsation der Vacuole mitteilte. Jedoch hat der Versuch, die Pulsation aus osmotischen Prozessen zu erklären, Degen zu besonderen Annahmen geführt, da es sich für die Erklärung der Systole und Diastole als notwendig erwies, eine unsichtbare, nur physiologisch differenzierte, den Gesetzen des osmotischen Druckes entgegenwirkende Membran als Hilfselement einzuführen. Alle hypothetischen widerspruchsvollen Annahmen Degen's über den Mechanismus der Pulsation beiseite lassend, werden wir uns nur mit Tatsachen aus dem Gebiet der osmotischen Erscheinungen be-

schäftigen und ihren Einfluß auf die Vacuolenpulsation bei der Einwirkung von neutralen Salzen untersuchen. Entsprechende Beobachtungen über die Wirkung dieser letzteren finden wir auch bei Rossbach (87, S. 43—44) und Kölsch (50, S. 355—362). Jedoch sind die Beobachtungen von Degen auf diesem Gebiet am vollständigsten und ausführlichsten. Die allgemeinen Veränderungen der contractilen Vacuole finden ihren Ausdruck bei Wirkung der starken Konzentrationen der Salze, wenn das ganze Infusor zusammenschrumpft, ferner in einer Dilatation, die regelmäßig eintritt.

Da in diesem Fall die Infusorien kollabiert sind, so ragt die dilatierte contractile Vacuole weit über die Körperoberfläche hervor und entleert sich selten oder nie vollständig, sondern höchstens so, daß der vorgewölbte Teil wieder in die Körperlinie zu liegen kommt, wobei nur sehr geringe Entleerungsgeschwindigkeit entfaltet wird (26, S. 169). Des weiteren stellt Degen experimentell fest, daß die Pulsfrequenz in funktioneller Abhängigkeit von der Molekularkonzentration der Salzlösungen steht; dabei wirken die isosmotischen Lösungen verschiedener Salze in gleicher Weise; der Grad und die Größe der Veränderungen sind für alle isotonischen Lösungen gleich. Die auftretenden Abweichungen erklärt Degen durch das besondere chemische Verhalten einiger neutraler Salze zum Protoplast (S. 170). Im allgemeinen retardieren die Lösungen neutraler Salze die Pulsfrequenz. Mit der Konzentration wächst auch die Pulsverlangsamung; es tritt schließlich Pulsstillstand ein. Gleichzeitig mit der Pulsverlangsamung wächst auch die Dilatation der Vacuole. Das Stillstehen der contractilen Vacuole findet bei eintretender Zusammenschrumpfung des ganzen Infusorienkörpers statt, wenn die Bewegung der Infusorien noch nicht aufgehört hat, d. h. das Stillstehen der contractilen Vacuole tritt vor dem Absterben des Organismus ein; die Infusorien bewegen sich ganz frei und regelmäßig bei vollständigem Pulsstillstand auf dem Stadium der dilatierten Diastole.

Die osmotischen Erscheinungen weisen vor allem darauf hin, daß der Inhalt der contractilen Vacuole aus Wasser besteht, indem möglicherweise geringe Quantitäten einiger Stoffe aufgelöst sind. Wenn die Konzentration der Salzlösung eine bestimmte Größe nicht übersteigt, spricht sich die Wirkung neutraler Salze in einem verstärkten Wasserzufluß zur contractilen Vacuole und in ihrer Dilatation aus; der osmotische Wasserzufluß hemmt auch das Zusammenfallen der pulsatorischen Einsenkung und verlangsamt die Systole. Wenn der osmotische Druck der umgebenden Salzlösung so groß wird, daß die Bildung der pulsatorischen Einsenkung nicht mehr möglich ist,

tritt das Stadium der vorgewölbten pulsatorischen Papille und dauernder Diastole ein. Auf diesem Stadium, wenn die Systole aufgehört hat, bleibt das Austreten der Vacuolenflüssigkeit nach außen bestehen. Infolge des fortdauernden Wasserzuflusses wächst die Dilatation der Vacuole immer weiter mit der Konzentrationssteigerung der Salzlösung bis zum Eintritt der pathologischen Prozesse des Plasmaabsterbens. Dadurch erklärt sich die Tatsache, daß die Infusorien trotz stillstehender Vacuolen weiter leben und sich bewegen.

Wirkung von Sauer- und Wasserstoff und anderen Gasen auf die contractile Vacuole.

Aus den Experimenten Rossbach's (67, S. 40) und Degen's (26, S. 167) über die Sauerstoffeinwirkung auf die Tätigkeit der contractilen Vacuole ergab sich, daß die Steigerung des partiellen Sauerstoffdruckes keinen Einfluß auf die Pulsation hat; erst mit dem Auftreten pathologischer Erscheinungen im Protoplasma ist eine Steigerung der Pulsfrequenz zu bemerken. Aus meinen früheren Experimenten über Sauerstoffeinwirkung auf die Infusorien (54) ergab sich, daß die Geschwindigkeit der Oxydationsprozesse bei verschiedenen Infusorienarten von der Oberflächengröße und dem Volum der Infusorien bedingt ist, weshalb solche Infusorien, wie *Colpidium* oder *Glaucoma*, die Degen untersuchte, sehr lange Zeit in reiner Sauerstoffatmosphäre zu leben vermögen, weil sie bei der relativ kleinen Oberfläche großes Volum haben. Pütter (80, S. 576) hat die Erstickungserscheinungen verfolgt und ihre Abhängigkeit von der Größe des Zelleibes konstatiert. Es ist nicht zu verwundern, daß sich die Veränderungen in der Pulsation der Vacuole erst nach langdauernder Einwirkung des Sauerstoffs bemerkbar machen, wenn schon Anzeichen von Oxydationsprozessen im Plasma selbst auftreten. In diesem Fall stehen die Pulsänderungen der contractilen Vacuole in unbezweifelbarem Zusammenhang mit bestimmten chemischen Prozessen im Plasma, die von verstärkter Ausscheidung flüssiger Produkte begleitet sind. In gleichem Maße hängt die Dilatation und die Retardation der Pulsfrequenz bei Einwirkung von Wasserstoff und Kohlensäure (Rossbach 67, S. 49—50; Kölsch 50, S. 366; Degen 26, S. 168) von chemischen Prozessen ab, die im Plasma vorgehen und bestimmte morphologische Veränderungen hervorrufen (Pütter 80, S. 573—574 und 590—592).

Die Wirkung hydro- und elektrolytischer Prozesse auf die contractile Vacuole.

Die Alkalien, Säuren und viele Salze schwerer Metalle, die die Fällung der Eiweißkörper bewirken, ebenso Alkaloide und Anästhetika haben fast die gleiche Wirkung auf die contractile Vacuole, jedoch erst bei solchen Konzentrationen, die deutliche Anzeichen chemischer Veränderungen und Narkose (WINTERSTEIN 107) des Plasmas hervorrufen. Sie bewirken eine Retardation des Pulses und eine Dilatation der Vacuole (ROSSBACH 67, S. 47—68; KÖLSCH 50, S. 371—372; DEGEN 26, S. 172—182). Bei seinen Experimenten über die Ionenkonzentration kam BARRAT-WAKELIN (14, S. 34; 16, S. 101; 17, S. 480—484) zu dem Schluß, daß die Säuren und Alkalien unmittelbare chemische Verbindungen mit dem Plasma eingehen. Die Quantität der mit dem Protoplasma sich verbindenden Säure ist bedeutend geringer als die der Alkalien. Mit der Erhöhung der Molekularkonzentration der Säuren und Alkalien nimmt die Ionenkonzentration, wenn auch nicht proportional, ab. Mit Hilfe von Farbenindikatoren hat BARRAT eine parallele Veränderung der Protoplasmareaktion unter der Einwirkung schwacher Säuren- und Alkalienlösungen, sowie des statischen elektrischen Stroms (16, S. 93—96) gefunden. Alle diese Tatsachen beweisen, daß die Wirkung der Säuren, Alkalien und folglich auch anderer ähnlicher Verbindungen auf die contractile Vacuole mit hydro- und elektrolytischen Prozessen im Plasma verbunden ist. Dies ist um so wahrscheinlicher, als der elektrische Strom bestimmter Spannung auch dieselben Erscheinungen der Dilatation und der Pulsverlangsamung hervorruft (SCHWALBE 95, S. 367; ROSSBACH 67, S. 57—65).

In der Tätigkeit der contractilen Vacuole sind vier Momente zu unterscheiden: Systole, Diastole, Pulsfrequenz und Volum der Vacuole. Jedes dieser vier Momente kann, wie wir gesehen haben, sich unter dem Einfluß äußerer Agentien verändern.

Die Systole (s) kann rasch und vollständig, langsam und unvollständig sein.

Die Diastole (d) kann rasch oder langsam mit normalem Volum (w) sein, oder rasch und langsam mit vergrößertem Volum (Dilatation).

Die Pulsfrequenz (v_p) kann Acceleration (a) und Retardation (r) zeigen.

Die ganze physiologische Tätigkeit der contractilen Vacuole summiert sich aus diesen vier Momenten, die auf Grund der histo-

logischen Struktur und des ganzen Pulsationsmechanismus zueinander in streng gesetzmäßigen Verhältnissen stehen können: 1. bei rascher Diastole kann es keine langsame Systole geben, wenn das Volum der Vacuole normal bleibt; eine langsame Diastole bei normalem Volum hat ebenfalls eine rasche Systole; somit hängt eine Beschleunigung oder Verlangsamung der Pulsfrequenz bei normalem Volum von der Geschwindigkeit der Diastole, d. h. von der Geschwindigkeit des Wasserzuflusses zur contractilen Vacuole ab. 2. Eine Zunahme des Volums der Vacuole (Dilatation) verlangsamt die Systole und macht sie unvollständig, die Diastole dagegen ist stets rasch. Die Verlangsamung des Pulses wird durch die Verlangsamung der Systole hervorgerufen.

Somit ist die Pulsfrequenz (v_p) bei normalem Volum der Vacuole der Geschwindigkeit der Systole (v_s) und Diastole (v_d) direkt proportional: $v_p = v_s \cdot v_d \ldots (1)$. Das Volum der Vacuole (w) ist ebenfalls direkt proportional der Geschwindigkeit der Diastole (v_d) und umgekehrt proportional der Geschwindigkeit der Systole v_s:

$$w = \frac{v_d}{v_s} \ldots (2).$$

Wenn wir die Geschwindigkeit der Systole in der Zeiteinheit: $\frac{n}{t}$ annehmen und die Geschwindigkeit der Diastole durch die Masse (m) des pro Zeiteinheit zufließenden Wassers: $\frac{m}{t}$ ausdrücken, so erhält die Gleichung (1) die Gestalt von $v_p = \frac{m \cdot n}{t^2} \ldots (3)$, d. h. die Geschwindigkeit der Pulsfrequenz steht im direkten Verhältnis zur Geschwindigkeit der Systole und Wassermasse und in umgekehrtem Verhältnis zum Quadrat der Zeit. Die Gleichung (3) weist auf die Wirkung einer steten Kraft des Druckes in contractiler Vacuole.

Der Umfang der Vacuole findet nach der Substitution in Gleichung (2) folgenden Ausdruck: $w = \frac{m}{n} \ldots (4)$

Je mehr die Pulsationszahl (n) sich *O* als Grenzwert nähert, desto mehr strebt der Umfang der Vacuole der Unendlichkeit zu, was bei Experimenten im Stadium der dilatierten Diastole seinen Ausdruck findet. Bei allen Zwischenveränderungen der sich verlangsamenden Systole nimmt die Vacuole an Umfang zu, und die progressive Dilatation hat also die Retardation der Pulsfrequenz zur Folge, da in der Gleichung (3) der ganze Bruch *O*- oder zum völligen Stillstand des Pulses strebt, wenn n sich *O* nähert.

Die histologische Struktur der contractilen Vacuole und ihre Veränderungen unter dem Einfluß der physikalisch-chemischen Agentien gibt uns die Möglichkeit den Pulsationsmechanismus der Vacuole zu erklären und ihre physiologische Funktion zu bestimmen. Man kann es als feststehend betrachten, daß der Pulsationsprozeß selbst durch die Bildung der pulsatorischen Papille und der darauffolgenden pulsatorischen Einsenkung bestimmt wird. Äußere Einflüsse, welche die Bildung der Papille hemmen oder die Möglichkeit des Zusammenfallens unterbinden, führen zum Stillstand der Pulsation. Jedoch hat dieser Stillstand kein gleichzeitiges Aufhören der physiologischen Funktion der contractilen Vacuole in jenen Fällen zur Folge, wenn die Pulsation bei vorgewölbter Papille aufhört, denn unter diesen Bedingungen findet die Ausscheidung der Flüssigkeit und ihre Entleerung auch weiterhin so lange statt, als der Organismus lebt. Der Mechanismus der Bildung der Papille und das ihr folgende Zusammenfallen der Einsenkung wird aber durch die Schwankungen des inneren Druckes des zufließenden Wassers bestimmt; die Geschwindigkeit und Masse des letzteren befindet sich wiederum im engsten Zusammenhang mit den allgemeinen physikalisch-chemischen Prozessen im Plasma.

Im Verlaufe des ganzen Pulsationsprozesses gibt es drei Momente, die besonderer Erklärung erheischen:

1. Warum findet ein Wasserzufluß statt, der eine Erhöhung des Druckes und die Diastole der Vacuole hervorruft?

2. Wie vollzieht sich die Entleerung der Vacuolenflüssigkeit nach außen?

3. Unter dem Einfluß welcher Kräfte geht das Zusammenfallen der Papille in eine pulsatorische Einsenkung vor sich?

Durch diese Fragestellung über die Tätigkeit der contractilen Vacuole wird die Kontraktionshypothese Schwalbe's überflüssig gemacht. Über die den Wasserzufluß hervorrufenden Umstände existiert die Imbibitionshypothese von Hoffmeister und Wrześniowski, ferner die Oxydationshypothese von Rossbach und Zenker und die osmotische Hypothese Degen's. Wenn man die Imbibitions- und Oxydationshypothese, die dem Plasma die Fähigkeit eines verschiedenen Verhaltens zum Wasser zuschreiben, aus dem Vitalistischen ins Physikalisch-chemische übersetzt, so ergeben sich als ihre Grundlage ebenfalls die osmotischen Erscheinungen im Plasma.

Der osmotische Druck zwischen dem umgebenden Wasser und dem Plasma führt bei der Annahme, daß die Pellicula permeabel ist, dazu, daß das Wasser in den Zellkörper eintreten muß; es muß

also ein dem Entleerungsprozeß der contractilen Vacuole entgegengesetzter Wasserstrom vorhanden sein. Es liegt aber auch nicht im entferntesten ein stichhaltiger Grund vor, ein Element in der Gestalt einer unsichtbaren und nicht zu beweisenden Membran der Vacuole, die mit komplizierten und den physikalischen Gesetzen zuwiderlaufenden Eigenschaften ausgestattet ist, einzuführen, wie Degen (26) voraussetzt. Die Veränderungen des osmotischen Druckes des umgebenden Wassers haben zweifellos einen Einfluß auf die Pulsation und können vom physikalisch-chemischen Standpunkt aus vollkommen erklärt werden; aber so kann es nie gelingen, aus der Osmose den Pulsationsmechanismus zu erklären. Solange die Pellicula permeabel sei, so könnten die osmotischen Erscheinungen sich frei auf der ganzen Körperoberfläche vollziehen und so würde der Infusorienkörper vom endosmotischen Druck zerfallen. Die Tatsachen der osmotischen Theorie fordern die Impermeabilität der Pellicula.

Es bleibt somit nur übrig, die Quelle des Wasserzuflusses zur Vacuole in den Prozessen des Protoplasmas selbst zu suchen. Es scheint uns, daß die hydro- und elektrolytischen Erscheinungen des Protoplasmas vollkommen genügen, um den Wasserzufluß in die contractilen Vacuolen zu erklären. Das Wasser bildet über 90 % des gesammten Zelleninhalts. Es befindet sich in der Zelle teils chemisch verbunden mit den Endoplasmastoffen, eventuell als Konstitutions- und Kristallisationsingredienz von Plasmakristallen, zu seinem größten Teil aber ist es als ein Lösungsmittel vorhanden, teils auch selbst in anderen Plasmaflüssigkeiten gelöst. Als Lösungsmittel ist das Wasser jener allgemeine Vermittler, in dem sich alle physikalisch-chemischen, resp. physiologischen Reaktionen vollziehen. In der Zelle sind alle Bedingungen verwirklicht, in denen sich die hydro- und elektrolytischen Reaktionen vollziehen können. Auf Grund der Ionentheorie kann man annehmen, daß die dissoziierten Wassermoleküle sich in dynamischem Gleichgewicht befinden und je nach der Geschwindigkeit der Reaktionen diffundiert der Wasserüberschuß auf die Oberfläche des Endoplasmas und bildet kleine Tropfen, die in Wasservacuolen zusammenfließen. Dieser Prozeß wird gefördert von Oxydationsprozessen der äußeren Endoplasmaschichten, wie wir später sehen werden. Die Steigerung der Vacuolentätigkeit bei Temperaturerhöhung, die laut dem Gesetz der Geschwindigkeit chemischer Reaktionen in der Geschwindigkeit des Wasserzuflusses ihre Erklärung findet, bestätigt unsere Annahme, daß die Ausscheidung und der Zufluß des Wassers mit hydrolytischen

Plasmareaktionen verbunden sind. Alle Erscheinungen, die bei Steigerung des osmotischen Druckes und bei der Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe beobachtet werden, sind mit Hydro- und Elektrolyse so eng verbunden, daß sie keiner weiteren Erklärung bedürfen. Die Periodizität der Wasserausscheidung, welche den Rhythmus der Pulsation und die Periodizität der Druckschwankungen bedingt, ist ihrerseits von der Periodizität der hydrolytischen Reaktionen im Plasma abhängig. Diese Tatsache ist keine spezifische Eigentümlichkeit der Zellphysiologie, da wir auch auf dem Gebiet der chemischen Reaktionen vielfach eine Periodizität beobachten.

Es bleibt uns nur noch die Frage zu erörtern, warum sich das Wasser an einen bestimmten Ort in der contractilen Vacuole ansammelt. Zu diesem Zweck verfolgen wir den Bildungsprozeß der contractilen Vacuole und ihre Lage bei den verschiedenen Protozoen. Bei den Amöben und einigen Flagellaten können sich die contractilen Vacuolen in verschiedenen Körperstellen bilden. Diejenigen Protozoen, die eine bestimmte Form haben, weisen auch die contractilen Vacuolen nur an bestimmten Stellen auf, die jedoch bei verschiedenen Arten nicht dieselben sind, auch ist die Zahl der Vacuolen nicht immer die gleiche. Bei denjenigen Formen, deren Peristom sich am hinteren Ende befindet, ist die Vacuole vorn, wenn das Peristom seitlich liegt, befindet sich die Vacuole seitlich. Die Lage der contractilen Vacuole bei den Holotrichen ist der Lage des Peristoms koordiniert; bei den Heterotrichen ist der Koordinationstypus ein anderer. Die Seite, auf der sich das Peristom befindet, ist leichter, als die entgegengesetzte, da der eine Teil des Raums mit Wasser, dessen spezifisches Gewicht geringer ist, angefüllt ist. Die Ansammlung des Wassers in der contractilen Vacuole kompensiert das Gewicht des peristomalen Teils und verleiht den Infusorien ihr Gleichgewicht. Bei den Paramäcien liegen die contractilen Vacuolen auf der dem Peristom entgegengesetzten Seite und dadurch ist ihre Lage durch die hydromechanischen Gesetze bestimmt. Die experimentellen Tatsachen beweisen, daß die Lage der contractilen Vacuole wirklich eine mechanische Rolle spielt. Degen weist auf die Tatsache der Drehbewegung der *Glaucoma* um die dilatierten Vacuolen, als um einen fixen Punkt hin (26, S. 173) und daran knüpft sich die Frage, ob die contractile Vacuole physiologisch als Gleichgewichtsorgan funktioniert oder bloß deshalb, weil darin der Schwerpunkt des Tieres liegen könnte. Aus der Beschreibung ist ersichtlich, daß die Dilatation der Vacuole das Gleichgewicht des Körpers und dadurch die Bewegung gestört hatte.

Analoge Erscheinungen der Drehbewegung führen Rossbach (67) und Kölsch (50) bei den Paramäcien in allen Fällen starker Vacuolendilatation an. Ich selbst habe bei normalen Lebensbedingungen beobachtet, daß, wenn die Paramäcien unbeweglich stehen, die contractilen Vacuolen und das Peristom gewöhnlich in einer horizontalen Ebene liegen; aus jeder anderen Lage kehren die Paramäcien rasch wieder in diese zurück.

Wir kommen jetzt zur zweiten Frage, auf welche Weise die Entleerung der Vacuole sich vollzieht. Wir haben hier die klassische Beschreibung Bütschli's, der das Vorhandensein eines besonderen Porus voraussetzt. Durch den Druck des sich ansammelnden Wassers wird die den Porus schließende Plasmalamelle immer dünner und in einem bestimmten Moment ganz gesprengt, die contractile Vacuole wird nach den Gesetzen der Oberflächenspannung bei der Berührung mit dem umgebenden Wasser mit ihm zusammenfließen; d. h. das Vacuolenwasser tritt aus dem Zelleib in die Umgebung aus (8, S. 1431 und 9, S. 65). Bei der beschriebenen histologischen Struktur vollzieht sich eine Vorwölbung der pulsatorischen Papille und eine Dehnung der Pellicula, welche unter der Druckeinwirkung des Vacuolenwassers eine gewisse Größe erreicht. Werden die Kanten der pelliculaten Feldchen ausgedehnt, so wird die größte Spannung dort eintreten, wo die drei Kanten der benachbarten Feldchen zusammentreffen; dort ist folglich die Pellicula am dünnsten, es tritt eine Ruptur ein und bilden sich die micropylaren Öffnungen. Durch diese wird sich das Vacuolenwasser nach den Gesetzen der Oberflächenspannung nach außen entleeren, d. h. die Systole findet statt.

Nach dem Gesetz der Schwere und infolge des Druckes des äußeren Wassers wird die Papille nach der Entleerung der Vacuole wieder zusammenfallen, es bildet sich die Invaginatio pulsatoria. Die Micropylen schließen sich mechanisch.

Um die physiologische Funktion der contractilen Vacuole klarzulegen, müssen wir zuvor auf die allgemeinen Bedingungen der Oxydationsprozesse in der Zelle kurz eingehen. Nach meinen Experimenten über Sauerstoffeinwirkung auf die Infusorien kann man es als feststehend betrachten, daß die Absorption des im Wasser aufgelösten Sauerstoffs auf der ganzen Körperoberfläche stattfindet, da die Geschwindigkeit der Oxydationsprozesse von der Größe der Oberfläche und des Volums des Infusorienkörpers und des atmosphärischen Druckes des Sauerstoffs streng gesetzlich abhängig ist (53, S. 71). Der in dem Wasser der Nahrungsvacuolen enthaltene Sauerstoff spielt nur eine untergeordnete Rolle bei den Oxydations-

prozessen der Zelle. Da die Sauerstoffabsorption auf der ganzen Körperoberfläche geschieht, so finden auch die Oxydationsprozesse hauptsächlich in den äußeren Endoplasmaschichten statt (KHAINSKY 53, S. 83). Die Oxydationsprozesse führen dort zur Bildung von Zerfallprodukten, die durch ihren osmotischen Druck die Wasseransammlung auf der Endoplasmaoberfläche begünstigen, außerdem wird bei den Oxydationsprozessen selbst Wasser gebildet. Die Ausscheidung des mit den Oxydationsprodukten belasteten Wassers ist die Hauptfunktion der contractilen Vacuole, in diesem Sinn kann die physiologische Hauptfunktion der Vacuole als respiratorische bezeichnet werden.

V. Entoplasma und Nahrungsvacuolen.

Die mit den Verdauungsprozessen verbundenen Erscheinungen habe ich auf histologischen Präparaten und mittels der Vitalfärbung untersucht; dabei habe ich eine neue Methode der Vitalfärbung angewendet, die intracellulare vitale Färbung genannt werden kann. Sie besteht darin, daß ich nicht eine bestimmte Farbenlösung angewendet habe, sondern ein chemisches Derivat der Farbe, das ich durch die Einwirkung von Alkalien oder Säuren auf die Farbe erhalten habe. Zur Färbung habe ich Neutralrot, Bismarckbraun, Vesuvin, Kongorot, Tropäolin u. a. angewendet.[1]) Die theoretischen Grundlagen meiner Methode der intracellularen vitalen Färbung sind auf der chemischen Zusammensetzung der Farben aufgebaut. Jede der angeführten Farben besteht aus einer Leucobase und einer mit ihr verbundenen Säure. Die Base von Neutralrot (Phenazinbase)

$$\begin{matrix} NH_2 \\ CH_8 \end{matrix}\!\!>C_6H_2\!\left<\begin{matrix} N \\ | \\ N \end{matrix}\right>\!C_6H_2-N(CH_3)_2$$

ist eine gelbe Verbindung, die bei Addition von Salzsäure die Neutral-

---

[1]) Vgl. ARNOLD (1, 2) Methylenblau und Neutralrot; BRANDT (13) Hämatoxylin, Bismarckbraun und Doppelfärbung; CERTES (18, 19) Bleu de quinoleine et cyanine; LE-DANTEC (25) Tournesol bleu et Alizarin sulfoconjugué; KHAINSKY (54) Methylenblau und Neutralrot; LOEB (59, 60) Neutralrot; METSCHNIKOFF (64) Tournesol bleu et Vesuvin; MITROPHANOW (67, 68) Methylenblau; NIERENSTEIN (70) Neutralrot, Bismarckbraun, Vesuvin, Kongorot, Methylorange, Tropäolin, Dimethyldiazobenzol; PROWAZEK (75, 76) Neutralrot; PRZEMYZKI (84, 85, 86) Methylenblau, Neutralrot, Nilblauchlorhydrat; PÜTTER (83) Neutralrot; RŮŽIČKA (91, 93) Neutralrot, vitalletale Färbung; STATKEWITSCH (101) Neutralrot; STOLC (99) Neutralrot.

rotfarbe selbst ergibt (NIETZKI 71, S. 191—193; JAKOBSON u. MEYER 69, II_1 S. 461 u. 238).

Triamidoazobenzol — $NH_2—C_6H_4—N=N—C_6H_3(NH_2)_2$ — gibt in Verbindung mit der Salzsäure eine Reihe von dem Bismarckbraun analoger Farben: Phenilenbraun, Vesuvin, Manchesterbraun (MEYER u. JAKOBSON 69, II_1 S. 266).

Wenn wir umgekehrt die Säurekomponente mit Alkalien neutralisieren, erzielen wir volle Entfärbung oder Farbenänderung, z. B. entfärbt sich 1 ccm 0,5 Proz. von Neutralrotlösung bei der Einwirkung von $^1/_{10}$ N Lösung 7,3 ccm KOH gänzlich und gibt bei weiterem Zusatz der Kalilauge einen dunkelgelben Niederschlag; ähnlich verändern Bismarckbraun und Vesuvin ihren braunen Farbenton in eine gelbe bei der Einwirkung von Alkalien und geben bei Überschuß der letzteren braune Niederschläge. Bei Rücktitrierung mit Salzsäure kehrt der ursprüngliche Farbenton wieder zurück.

Methylorange, Tropäolin bilden unter dem Namen Helianthin eine analoge Reihe der amidoazobenzol-, mono- und disulfosauren Farben. Die Natriumsalze dieser Farben sind orangegelb; bei Titrierung mit Salzsäure resp. Säuren erhalten sie rosarote Färbung MEYER u. JAKOBSON 69, II_1 S. 264—265).

Kongorot und die Analogen: Benzopurpurin, Wollschwarz u. a. gehören der Gruppe Naphtalinamidoazo-mono- und disulfosauren Farben an. Kongorot hat eine Diphenylbase, sein Natriumsalz hat eine rotbraune Farbe (MEYER u. JAKOBSON 69, II_2 S. 416—418). Zu dieser Gruppe gehört auch Naphtolorange und Tropäolin 000 Nr. 1 u. Nr. 2. Bei der Salzsäurewirkung ergibt Kongorot eine blaugrüne Färbung, die auch bei Überschuß von Salzsäure sich nicht verändert, nach der Rücktitrierung mit Kalilauge wird der ursprüngliche Farbenton wieder hergestellt.

Meine Methode habe ich darauf aufgebaut, daß die Titrierung der Farbenlösung nur bis zu dem Punkt geführt wurde, wo die Neutralität der Reaktion gerade noch erhalten blieb. Die so erzielten Lösungen sind gegen die kleinste Quantität freier Säure sehr empfindlich. Wenn man 10 Tropfen von mit Alkali titrierter farbloser 0,5 proz. Neutralrotlösung in 50 ccm destilliertes Wasser ausgießt, so erhält die Lösung nach dem Zusatz von 1—2 Tropfen 0,3 proz. Salzsäurelösung eine deutliche rosarote Färbung; nach der Hinzuführung von 1—2 Tropfen $^1/_{10}$ N Lösung Kalilauge entfärbt sich die Neutralrotlösung wieder. Bismarckbraun und Vesuvin geben keine so deutlichen Kontraste.

Mit solchen neutralisierten Farbenlösungen habe ich die Paramäcien behandelt, in der Annahme, daß selbst geringste Spuren freier Säure oder Basen im Zellkörper damit nachgewiesen werden dürften. Diese Annahme wurde durch die Experimente bestätigt: innerhalb der Zelle konnte ich die Färbung einzelner Bestandteile erzielen. Die empfindlichste Reaktion ergibt die neutralisierte Neutralrotlösung: 1—2 Tropfen 0,01 proz. neutralisierter farbloser Neutralrotlösung in 10 ccm Wasser, in dem die Paramäcien schwimmen, hinzugesetzt, ergeben vor allem eine Färbung der Nahrungsvacuolen von bestimmter Struktur, ebenso rasch färben sich die kleinen Entoplasmakörnchen, resp. Tröpfchen, die sich besonders dicht um den Schlund und Nahrungsvacuolen ansammeln. Etwas später färben sich die größeren Entoplasmakörnchen resp. Tröpfchen und differenzieren sich nach der Struktur und dem Charakter der Färbung die Nahrungsvacuolen. Jede sich bildende Nahrungsvacuole ist zunächst ungefärbt und bleibt auch einige Zeit nach der Ablösung vom Schlund farblos. Die Färbung der Vacuolenflüssigkeit beginnt an ihrer Peripherie und verbreitet sich rasch nach dem Innern zu, die Färbung hat einen deutlich diffusen Charakter, da die Nahrungspartikelchen selbst ungefärbt bleiben. Hand in Hand mit der allmählichen Färbung der Nahrungselemente vollzieht sich die Ballung des Vacuoleninhaltes (Taf. III Fig. 52 a, b, c). Das Volum der Nahrungsvacuole verringert sich (c—f), und die allmähliche Wasserdiffusion in das umgebende Plasma führt schließlich dazu, daß der Umfang der Vacuolen auf den geballten Inhalt beschränkt und durch ihn bestimmt wird (f). Auf diesem Stadium verharrt die Nahrungsvacuole am längsten; sie hat nun eine kompakte Struktur und starke Färbung. Im Laufe der Zeit beginnt sie sich dann wieder zu vergrößern (g—k); es geht eine Auflösung des Inhaltes vor sich; es bilden sich Körnchen resp. Tröpfchen, die intensiv gefärbt sind und sich der Vacuolenoberfläche anlagern; doch lösen sie sich oft von der Vacuole ab und treten ins Entoplasma (Taf. III Fig. 52 g, h, k). Durch das allmähliche Austreten der Körnchen resp. Tröpfchen entfärbt sich die Nahrungsvacuole immer mehr und rasch, schließlich ist ihr Inhalt ganz farblos (l). Nach der Entfärbung tritt eine zweite Verkleinerung der Vacuole ein und es sind in ihr einige dunkle unverdaute Nahrungsreste zu bemerken.

Die zweite Vergrößerung der Nahrungsvacuole, die Bildung der Körnchen resp. Tröpfchen, ihr allmähliches Austreten und die Entfärbung der ganzen Vacuole vollzieht sich rasch und ist in 10—15 Minuten bereits abgeschlossen. An einem sich teilenden Paramäcium

beobachtete ich, wie nacheinander fünf Nahrungsvacuolen dies Stadium durchliefen. Überhaupt sind die sich teilenden Paramäcien das passendste Material für die Beobachtung dieser Evolutionsperiode der Nahrungsvacuolen. Während der Teilung bilden sich überhaupt keine Nahrungsvacuolen mehr, worauf ich bereits in meiner Arbeit (53, S. 90) hingewiesen habe und was ich jetzt durch Versuche mit Karminfütterung bestätigte. Die Karminkörnchen werden von sich teilenden Paramäcien gar nicht verschlungen. Alle früher, vor der Teilung gebildeten Nahrungsvacuolen machen ihr zweites Stadium der Volumvergrößerung allmählich durch.

Die zweite Volumverringerung und die völlige Entfärbung der Nahrungsvacuolen verlaufen ebenfalls sehr rasch in ca. 10 Minuten.

Die Vitalfärbung mit Bismarckbraun und Vesuvin ergibt keine so deutlichen Resultate. Die hellgelbe neutralisierte Farblösung bewirkt innerhalb der Paramäcien eine braune Färbung der Entoplasmakörnchen resp. -tröpfchen und der Nahrungsvacuolen der ersten Periode. Mit der Volumvergrößerung und der Differenzierung der Körnchen kehrte die gelbe Färbung der Nahrungsvacuole wieder und blieb bis zum Schluß.

Interessante Resultate ergab die neutralisierte Kongorotlösung. Die entoplasmatischen Körnchen färben sich gar nicht. In den Nahrungsvacuolen der ersten Periode tritt eine deutliche blaugrüne Färbung ein. Mit dem Eintritt der Umfangsvergrößerung erhält sich die sehr schwache bläuliche Färbung nur im flüssigen Vacuoleninhalt; es war unmöglich, die Bildung von Körnchen (resp. Tröpfchen) zu verfolgen, da sie sich nicht färben. Gegen das Ende dieses Stadiums oder mit dem Beginn der zweiten Volumvergrößerung kehrt die ursprüngliche ziegelrote Farbe wieder. — Die entoplasmatischen Körnchen lassen sich weder mit Tropäolin, noch mit Methylorange färben. Die von Tropäolin oder Methylorange rosarote Färbung der Nahrungsvacuolen der ersten Periode geht mit dem Beginn der Volumvergrößerung der Vacuole allmählich in gelblich-orange über und verschwindet schließlich ganz. Nierenstein (70, S. 483) hat bei Anwendung von reiner Kongorotlösung überhaupt keine blaugrüne Färbung der Nahrungsvacuolen erhalten, und die entoplasmatischen Körnchen resp. Tröpfchen färbten sich auch nicht mit Kongorot, Tropäolin, Methylorange und Dimethyldiazobenzol.

Die Färbung der Nahrungsvacuolen mit neutralisierten Farbenlösungen weist auf den Eintritt einer sauren Reaktion hin, die von einem besonderen Ferment, welches in die Nahrungsvacuole gelangt und freie Salzsäure enthält, hervorgerufen wird, denn nur Salzsäure

kann unter den in Experimenten hergestellten Bedingungen die Farbe aus ihrer neutralisierten Lösung befreien. Auf eine saure Reaktion in den Nahrungsvacuolen weisen auch GREENWOOD [1]), MEISSNER (65), METSCHNIKOFF (64), LE-DANTEC (25), FÜRST (39) und KHAINSKY (53) hin. NIERENSTEIN (70, S. 417) spricht zum Schluß seiner Untersuchungen die Meinung aus, daß in den Nahrungsvacuolen der ersten Periode freie Salzsäure 0,018—0,03 Proz. enthalten ist. Er unterscheidet in der Entwicklung der physiologischen Prozesse zwei Perioden: die erste charakterisiert er „nach der Ablösung der Nahrungsvaculoe vom Schlund, durch die Verkleinerung, Wasserverlust, Ballung des Inhaltes, Rotfärbung des Ballens, Eindringen von Entoplasmakörnchen in die Vacuole, saure Reaktion". In der zweiten Periode treten „Wasseraufnahme, Entfärbung, Zerfall des Bacterienballens, schließlich Auflösung der verflüssigten Granula, alkalische Reaktion" auf (70, S. 465—477; 487). Die Dauer der beiden Perioden ist nach NIERENSTEIN die umgekehrte im Vergleich zu der bei meinen Experimenten festgestellten; nach NIERENSTEIN verläuft die zweite Periode langsamer als die erste. Er zieht den allgemeinen Schluß, daß in der ersten Periode eine Tötung der aufgenommenen Bacterien durch das saure toxische Ferment geschieht, während in der zweiten Periode mit Beginn der alkalischen Reaktion proteolitische Prozesse einsetzen, wobei er die Entoplasmakörnchen als Träger eines triptyschen Fermentes ansieht (70, S. 496).

Aus meinen Experimenten mit intracellularer vitaler Färbung ergibt sich folgendes Bild der physiologischen Prozesse in den Nahrungsvacuolen. Mit dem Eindringen des sauren Ferments in die Nahrungsvacuole findet die Tötung der aufgenommenen Organismen statt und es treten die wichtigsten proteolytischen Prozesse ein, die während der ganzen ersten Periode der kompakten Struktur der Nahrungsvacuole langsam verlaufen. Die allmähliche Auflösung des Nahrungsballens und die Ansammlung der durch die Proteolyse verflüssigten Stoffe erhöht den osmotischen Druck in der Nahrungsvacuole und das Wasser beginnt aus dem Entoplasma in diese letztere infolgedessen zu diffundieren. Die verflüssigten Stoffe bilden in der Vacuolenflüssigkeit nach den Gesetzen molekularer Physik Tröpfchen resp. Körnchen. Die gebildeten Tröpfchen resp. Körnchen eliminieren leicht ins Entoplasma. Mit ihrer allmählichen Eliminierung sinkt der osmotische Druck in der Nahrungsvacuole, das Wasser diffundiert zurück ins Plasma und es beginnt die zweite Umfangs-

[1]) Citiert nach BÜTSCHLI (8) und NIERENSTEIN (70).

verringerung der Nahrungsvacuole. Die Reaktion der Nahrungsvacuole ist während des ganzen Zeitverlaufs der proteolytischen Prozesse eine saure Reaktion, und erst gegen Schluß der zweiten Periode, wenn die Auflösung zu Ende geht, wird die Reaktion neutral und geht in Excretvacuolen möglicherweise in eine alkalische über.

Was die Entoplasmakörnchen (resp. -tröpfchen) betrifft, so ist ihre physiologische Funktion leicht zu bestimmen. Der Umstand, daß sie sich weder mit Kongorot noch mit Methylorange und Tropäolin färben lassen, weist darauf hin, daß sie keine saure oder alkalische Reaktion haben; ihre Färbung mit Neutralrot, Bismarckbraun und Vesuvin kann damit erklärt werden, daß die Entoplasmakörnchen chemische Verbindungen mit Leucobasen dieser Farben eingehen; diese Verbindungen haben den Farbenton der freien Farben. Mit sulfosauren Farben, zu denen Kongorot, Methylorange, Tropäolin u. a. gehören, gehen die Körnchen resp. Tröpfchen keinerlei Verbindungen ein. Diese Auffassung wird durch die Experimente Heidenhain's bestätigt (44, S. 177—187 u. 145—154), die das verschiedene Verhalten der Eiweißstoffe zu basischen und sulfosauren Farben erwiesen. Wenn die Körnchen mit sulfosauren Farben chemische Verbindungen eingehen würden, so müßten sie den Farbenton der Natriumsalze der letzteren aufweisen, d. h. sie müßten als eine Base funktionieren. Auf den chemischen Charakter der Neutralrotfärbung dieser Körnchen weist auch Stolc (99, S. 213) hin, indem er sagt, daß Neutralrot labile Verbindungen mit Nahrungsprodukten der Vacuolen und mit Nahrungsballen eingehen.

Růžička (94, S. 97—98) erklärt die vital-letale Färbung der lebenden Plasmastoffe mit Neutralrot auf chemische Weise. Man kann es als feststehend betrachten, daß die Entoplasmakörnchen resp. -tröpfchen keine freien Säuren oder Alkalien enthalten; denn in ersterem Falle würden sie mit neutralisierter Lösung von Kongorot, Methylorange und Tropäolin eine der sauren Reaktion entsprechende Färbung ergeben, oder, wenn sie Alkalien hätten, würden sie sich durch neutralisierte Neutralrotlösung gar nicht färben lassen und die Basen von Bismarckbraun und Vesuvin keine braune Färbung ergeben. Folglich können die Entoplasmakörnchen trotz Nierenstein (70, S. 496) und Prowazek (76, S. 189) nicht Träger des sauren oder alkalischen Ferments sein.

Einwirkung der Temperatur auf die Nahrungsvacuolen.

Bis 30° C bilden sich die Nahrungsvacuolen bei den Paramäcien durchaus normal, die physiologischen Prozesse dagegen weisen eine

Beschleunigung auf, die ziemlich parallel mit der Temperaturerhöhung läuft. Eine besonders merkliche Beschleunigung der Verdauungsprozesse tritt bei 24° C und mehr ein. Dies führt dazu, daß jede Vacuole ihren Entwicklungscyclus rascher durchläuft; da jedoch eine entsprechende Beschleunigung der Neubildung von Nahrungsvacuolen fehlt, so vermindert sich schließlich die Zahl der Nahrungsvacuolen im Zellkörper. Anfänglich tritt gleichzeitig mit der Beschleunigung der Verdauung eine Vermehrung der entoplasmatischen, mit Neutralrot färbbaren Körnchen auf, deren Zahl sich nach längerer Einwirkung der hohen Temperatur oder bei weiterer Temperatursteigerung verringert. Bei Temperaturen über 24° C findet allgemein eine Ansammlung großer Mengen dunkler Excretkörner im Entoplasma statt, die oft kristallischer Struktur sind und die sich vorwiegend am vorderen und hinteren Körperende anhäufen.

Von 30° C an nehmen die Paramäcien fast keine Nahrung mehr auf; der Inhalt ihrer Nahrungsvacuolen besteht nur aus Wasser. Da diese Vacuolen infolge osmotischer Prozesse ihr Wasser rasch an das Entoplasma abgeben, so verschwinden sie rasch ganz oder verwandeln sich in kleine Nahrungsballen, wenn sie noch einige Nahrungskörper enthielten. Es findet gleichsam ein ununterbrochener Wasserabfluß durch die Nahrungsvacuolen und die contractilen Vacuolen nach außen statt. Das Volum der Wasservacuolen ist bei dieser Temperatur größer als bei gewöhnlicher. Über 30° C nehmen die entoplasmatischen Körnchen an Zahl ab und verschwinden oft ganz.

Bei 35—36° C beginnt eine feine Vacuolisation des Entoplasmas, die Vacuolen erreichen aber nie große Dimensionen. Das langsame Absterben der Paramäcien fängt bei 30° C ca. 18—20 Stunden nach dem Beginn des Experimentes an. Bei weiterer Temperaturerhöhung erfolgt das Absterben rascher; das gleichzeitige Absterben der einzelnen Paramäcien hängt anscheinend von ihrem besonderen Zustande bei Beginn des Experimentes ab. Eine Temperatur von 40° C und mehr tötet die Paramäcien im Laufe einiger Minuten fast gleichzeitig.

Die Experimente über den Temperatureinfluß erweisen die Abhängigkeit der mit Neutralrot, Bismarckbraun und Vesuvin färbbaren Entoplasmakörnchen von der Schnelligkeit der in den Nahrungsvacuolen stattfindenden Verdauung. Je rascher die Umbildung der Nahrungsvacuolen bis 30° C verläuft, desto mehr Entoplasmakörnchen häufen sich an. Vom Augenblick der Bildung von Wasservacuolen bei 30° C und mehr an verringert sich die Zahl der Entoplasmakörnchen und schließlich verschwinden sie ganz. Auf analoge

Schwankungen der Entoplasmakörnchenmenge im Zusammenhang mit Verdauungsvorgängen in den Nahrungsvacuolen wies ich bereits früher (53, S. 11) für normale Lebensbedingungen hin. Beim Hungern (Wallengren 105, Khainsky 53), ebenso bei Sauerstoffeinwirkung (Khainsky 53) verschwinden die Entoplasmakörnchen allmählich.

Wenn man alle Prozesse, die im Zellkörper bei Temperaturerhöhung vor sich gehen, zusammenfaßt — die Erhöhung der Pulsfrequenz, der raschere Verlauf der Verdauung, die damit verbundene Vermehrung der Excretkörner und die verstärkte Ausscheidung von Kohlensäure (Barrat-Wakelin 15, S. 72) — so erhält man ein klares Bild des mit der Temperaturerhöhung sich steigernden Stoffwechsels.

Histologie der Nahrungsvacuolen.

Mit meiner neuen Fixierungsmethode war es mir möglich, die Histologie der Nahrungsvacuolen auf Schnitten zu verfolgen. Die mit Brom und salpetersaurem Silber nach M. I behandelten Paramäcien zeigen deutliche Niederschläge von Silberbromat (AgBr) in den Nahrungsvacuolen und dem Kern. Die eben neugebildeten Nahrungsvacuolen enthalten fast keine Niederschläge; dagegen enthalten die Vacuolen mit verdichtetem Inhalt reichliche Niederschläge in der Gestalt zahlreicher, an Größe höchst verschiedener Körnchen. Ähnliche Körnchen treten auch im Entoplasma auf.[1]) Wenn man die Paramäcien zuerst 4—6 Stunden einer Temperatur von 30° C aussetzt, so finden sich in den Nahrungsvacuolen keine Niederschläge, auch zerfließen die Vacuolen meist. Im Entoplasma sind dagegen runde Körnchen von AgBr zu bemerken. In allen Fällen tritt der Kern deutlich hervor, da er reichliche Niederschläge von AgBr enthält, die ihm einen dunklen Farbenton verleihen. Auf Schnitten konnte man sehen, daß in Nahrungsvacuolen von bestimmter histologischer Struktur der Niederschlag des AgBr die Form von Kügelchen annahm, die sich in der ganzen Vacuole regelmäßig verteilen. Im Entoplasma verteilen sich die körnigen Niederschläge in der verschiedensten Weise, finden sich aber stets besonders dicht neben den Nahrungsvacuolen. Die allgemeine Menge des Niederschlags schwankt auf den Schnitten einzelner Paramäcien bedeutend. Zur

[1]) Da wir Anwesenheit von freien HCl in den Nahrungsvacuolen festgestellt haben, so könnte man einen Teil dieser Niederschläge der Bildung von AgCl zuschreiben, aber ohne vorhergehende Bromwirkung kann $AgNO_3$ keine sichtbaren Niederschläge von AgCl geben.



Erleichterung der Untersuchungen wurden die Schnitte nach der Einwirkung von $AgNO_3$ gewöhnlich mit Safranin oder Säurefuchsin gefärbt, indem die dunklen Niederschläge dann deutlich auf rotem Hintergrunde zu sehen waren. Mit Hilfe der Bromfixierung nach M. II a, b, c und komplizierter Färbung differenzieren sich die Nahrungsvacuolen nach ihrer histologischen Struktur. Die besten Resultate ergab FLEMMING's Dreifachfärbung (F. 1). Einige spezielle Eigentümlichkeiten der Struktur zeigt die MALLORY'sche Färbung.

Wenn wir die sich neubildende Nahrungsvacuole als Ausgangspunkt nehmen, so können wir eine ganze Reihe von Übergangsformen bis zur typischen Excretvacuole feststellen. Die entstehende Nahrungsvacuole erscheint als kleiner Tropfen, dem die Nahrungselemente in verschiedener Weise sich einlagern (Taf. III Fig. 55 u. 56 Nv_1), ohne ihn ganz auszufüllen. Die Nahrungskörper färben sich nach FLEMMING blau. Die Hauptmasse der Vacuole ist Wasser, welches sich nicht färbt. Gleichen Bau und Färbung haben auch die Nahrungsvacuolen, die sich erst vor kurzem vom Schlunde losgelöst haben (Taf. III Fig. 55 u. 56 Nv_2). Des weiteren lassen sich Umwandlungsstadien feststellen, wobei das Volum der Vacuolen sich verringert, der Inhalt eine kompakte Struktur aufweist (Taf. III Fig. 56 Nv_3). Jetzt hat die Vacuole jenen typischen Bau erlangt, den man auch bei vitaler Färbung am häufigsten trifft; solche Nahrungsvacuolen bilden daher auch auf Schnitten die überwiegende Mehrzahl, ca. 70 Proz. (Taf. III Fig. 54—56 Nv_4). Mit der steigenden Dichtigkeit der Nahrungsvacuole verändert sich ihr Farbenton ins bläulich-violette (Taf. III Fig. 53 *c*, *d*, *e*).

Außer den beschriebenen Stadien sind auch Nahrungsvacuolen von anderem Bau auf den Schnitten anzutreffen. Der Inhalt dieser Vacuolen, deren Hervorbildung an dem Zustand des dichten Nahrungsballens wir schon früher verfolgten, besteht aus runden Körnchen, die sich intensiver färben als der übrige Teil der Vacuole (Taf. IV Fig. 54, 56 Nv_5). Die kleinen dichteren Nahrungsvacuolen dieses Baues gehen allmählich in solche von größerem Volum über, in denen weniger Körnchen enthalten sind (Taf. III Fig. 54—56 $Nv_{6,7}$). Ihre Färbung ist violett-rot (Taf. III Fig. 53 *f*, *h*, *k*).

Neben diesen beiden Arten der Nahrungsvacuolen kommen als Endstadien Excrementvacuolen, die einen diffusen unbestimmten Farbenton annehmen (Taf. III Fig. 54—56 *e*—*v*; Fig. 53 *l*).

Wenn man die vital gefärbten Nahrungsvacuolen mit denen der Schnitte vergleicht, so tritt der Parallelismus im Bau mit dem allgemeinen Entwicklungsgang deutlich hervor. Die Nahrungsvacuolen

der ersten Periode sind sowohl bei Vitalfärbung als auf Schnitten nach der Ablösung vom Schlunde von einem bestimmten Volum. Hierauf verkleinern sie sich, erfahren eine Ballung des Inhaltes durch den Wasserverlust, färben sich daher intensiver, erlangen saure Reaktion. Dies kompakte Stadium ist von relativ langer Dauer.

In der zweiten Periode vergrößern sich die Nahrungsvacuolen wieder im Volum, ihr dichter Nahrungsballen löst sich auf, es bilden sich runde Körnchen, die ins Entoplasma übertreten; die saure Reaktion schwindet allmählich. Zum Schluß der zweiten Periode verkleinert sich die Vacuole wieder und bildet eine Excretvacuole, welche eine neutrale bis wahrscheinlich alkalische Reaktion hat, einige wenige unverdaute Nahrungsreste enthält und sich auf Schnitten diffus färbt.

Im Entoplasma treten bei Flemming's Dreifachfärbung violettrote Körnchen, ähnlich denen der Nahrungsvacuolen der zweiten Periode. Bei der Mallory-Färbung bleiben die Nahrungsvacuolen der ersten Periode ganz ungefärbt, während in denen der zweiten Periode die Körnchen sich bläulich-grün färben. Meist sind letztere Nahrungsvacuolen von solch blau-grünen Körnchen umringt, die sich auch im übrigen Entoplasma finden. Diese Tatsache beweist die Identität der Entoplasmakörnchen mit denen der Nahrungsvacuolen zweiter Periode.

Wenn wir unsere Beobachtungen über Vitalfärbung, über die Wanderung der Körnchen aus den Nahrungsvacuolen der zweiten Periode in das Entoplasma, über das typische Abhängigkeitsverhältnis der Zahl der Entoplasmakörnchen von der Schnelligkeit der Verdauung in den Nahrungsvacuolen, sowohl bei normalen Lebensbedingungen, als auch bei erhöhter Temperatur, beim Hungern und bei Sauerstoffeinwirkung zusammenfassen, sodann die Tatsachen des verschiedenen Verhaltens der Entoplasmakörnchen zu basischen und sulfosauren Farben berücksichtigen, ebenso die gleiche Färbung der Entoplasmakörnchen und derjenigen in den Nahrungsvacuolen der zweiten Periode und endlich den Charakter der Niederschläge von Silberbromat, so müssen wir notwendig zu folgendem Schluß kommen:

Die Entoplasmakörnchen, die sich vital mit basischen Farbstoffen färben lassen, sind denen in den Nahrungsvacuolen der zweiten Periode enthaltenen völlig gleich und sind die ersten Produkte der Assimilationsprozesse in der Nahrungsvacuole. Ihre weiteren chemischen Umwandlungen gehen unmittelbar im Entoplasma vor sich (vgl. Khainsky 53, S. 37).

Die Entoplasmakörnchen sind Produkte der Proteolyse in den Nahrungsvacuolen, die unter der Einwirkung des sauren Ferments verläuft, welches eine gewisse Zeit nach der Ablösung der Nahrungsvacuole vom Schlunde in ihr auftritt.

VI. Über den Macro- und Micronucleus.

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich noch kurz auf das Verhalten des Macro- und Micronucleus bei der Brom- und Chloreinwirkung eingehen. Wir wiesen bereits darauf hin, daß sogar bei der bloßen Bromwirkung der Macronucleus gut konserviert und mit Silbernitrat deutlich differenziert wird. Bei der Behandlung nach der M. II a, b, c und nach der Färbung F. 1 (Flemming) und F. 3 (Mallory) ist in dem Macronucleus eine charakteristische Metachromasie und Chromatindeformation zu bemerken. In meiner früheren Arbeit (53) habe ich die Reduktion des Chromatins mit der Kernsaftbildung in Verbindung gebracht, dabei habe ich der Meinung Ausdruck gegeben, daß die Ungleichmäßigkeit der Struktur des Chromatins seine chemische Umwandlung anzeige. Die nunmehr festgestellte Tatsache der Metachromasie und der Deformation der Kernsubstanzen wies deutlich auf die verschiedenen chemischen Umwandlungsprozesse, welche mit den physiologischen Funktionen des Macronucleus verbunden sind. Die genauere Feststellung des Chemismus der Kernsubstanzen während dieser morphologischen Deformationen erfordert die Anwendung spezieller Methoden und der mikrochemischen Analyse und kann nur den Gegenstand einer besonderen Arbeit bilden.

Der Micronucleus hat sich im Verlauf meiner Experimente als das beharrlichste Element des Zellkörpers herausgestellt. Weder bei der Teilung noch in ruhendem Zustand zeigte er bei den angewandten Methoden besondere Veränderungen.

Literaturverzeichnis.

1) Arnold, J.: Weitere Beobachtungen über „vitale“ Granulabildung. Anat. Anz. Bd. 16 1899,
2) —: Fettkörnchenzellen und Granulalehre. Anat. Anz. Bd. 18 1901.
3) Ballowitz, E.: Fibrillare Struktur und Contractilität. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 46 1889.
4) Blochmann, F.: Die mikroskopische Tierwelt. I. Protozoa. Hamburg 1895.
5) —: Kleinere Mitteilungen über Protozoen. Biol. Centralbl. Bd. 14 1894.
6) Benda, Hr. C.: Über neue Darstellungsmethoden der Centralkörperchen und die Verwandtschaft der Basalkörperchen der Cilien mit Centralkörperchen. Arch. f. Physiol. 1901, Physiol. Abt. H. 1 u. 2.
7) Bokorny, Th.: Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 64 1896.
8) Bütschli, O.: Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs 1887—1889. Protozoa.
9) —: Über Dendrocomites paradoxus Stein, nebst einigen Bemerkungen über Spirochona gemmipara und die contractilen Vacuolen der Vorticellen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 28 1877.
10) —: Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten und einiger verwandten Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 30 1877.
11) —: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. Abh. der Senckenb. naturf. Ges. Bd. 10 1876.
12) —: Zur Kenntnis der Fortpflanzung bei Arcella vulgaris. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 11.
13) Brandt, K.: Färbung lebender einzelliger Organismen. Biol. Centralbl. Bd. 1 1881.
14) Barrat, J. O. Wakelin: Die Addition von Säuren und Alkalien durch lebendes Protoplasma. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 5 1905.
15) —: Die Kohlensäureproduktion vom Paramaecium aurelia. Ibid.
16) —: Die Reaktion des Protoplasmas in ihrem Verhältnis zur Chemotaxis. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 4 1904.
17) — Die Wirkung von Säuren und Alkalien auf lebende Paramäcium. Ibid.
18) Certes, M. L.: Sur un procède de coloration des Infusoires et des éléments anatomiques pendent la vie. Zool. Anz. 1881 Nr. 81.
19) —: Dosage de la solution de Cyanine pour la coloration des Infusoires. Ibid. Nr. 84.
20) Claparède, Ed.: Über Actinophrys Eichhornii. Müller's Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Med. 1854.
21) Clarke, J.: Über den Einfluß niederer Sauerstoffpressungen auf die Bewegung des Protoplasmas. Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. 6 1887.

22) Cohn, F.: Beiträge zur Kenntnis der Infusorien. III. Über die Cuticula der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 5 1854.

23) —: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 3 1851.

24) —: Neue Infusorien im Seeaquarium. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 16 1851.

25) Le-Dantec, M. F.: Recherches sur la digestion intracellulaire chez les protozoaires. Ann. d'Inst. Pasteur T. 4 et 5 1890—1891.

26) Degen, A.: Untersuchungen über die contractile Vacuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas. Botan. Ztg. Bd. 63 1905.

27) Eimer, Th.: Weitere Nachrichten über den Bau des Zellkernes nebst Bemerkungen über Wimperepithelien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.

28) Eismond, O.: Über die Natur der sogenannten kinetischen Centren der Zellen. Verh. d. Anat. Ges. in Pavia 1900.

29) Engelmann, Th. W.: Zur Anatomie und Physiologie der Flimmerzellen. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 23 1880.

30) —: Über Flimmerbewegung. Jen. Zeitschr. f. Med. u. Naturw. Bd. 4 1868.

31) —: Die Flimmerbewegung. Handb. f. Physiol. Bd. I, 1 1879.

32) —: Zur Naturgeschichte der Infusionstiere. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 11.

33) —: Zur Physiologie der contractilen Vacuole der Infusionstiere. Zool. Anz. 1878.

34) —: Über Licht und Farbenperzeption niederster Organismen. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 29.

35) Ehrmann, P.: Über die contractile Vacuole der Infusorien. Sitz.-Ber. d. naturf. Ges. zu Leipzig Bd. 21 1814.

36) Fabre-Domergue, P.: Les infusoires ciliés. Ann. de Sci. nat. Zool. T. 5 1888.

37) Frenzel, J.: Zum feineren Bau des Wimperapparates. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

38) Fürst, C. M.: Haarzellen und Flimmerzellen. Anat. Anz. Bd. 18 1900.

39) Fürst, O.: Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. Jena 1903.

40) Gurwitsch, A.: Zur Entwicklung der Flimmerzellen. Anat. Anz. Bd. 17 1900.

41) —: Studien über Flimmerzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37 1901.

42) —: Morphologie und Biologie der Zelle. Jena 1904.

43) Heidenhain, M.: Beiträge zur Aufklärung des wahren Wesens der faserförmigen Differenzierungen. Anat. Anz. Bd. 16 1899.

44) —: Über chemische Umsetzungen zwischen Eiweißkörper und Anilinfarben. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 90 1902.

45) Henneguy, L. F.: Sur les apports des cils vibratiles avec les centrosomes. Arch. d'anat. micr. T. 1 1898.

46) Jennings, By. H. S.: A Method of Demonstrating the external Dicharge of the contractile Vacuole. Zool. Anz. Bd. 27 1904.

47) Jensen, P.: Absolute Kraft einer Flimmerzelle. Arch. f. ges. Physiol. Bd. 54 1899.

48) —: Untersuchungen über Protoplasmamechanismus. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 87.

49) Joukowsky, D.: Beiträge zur Frage nach den Bedingungen der Vermehrung und des Eintritts der Conjugation an den Ciliaten. Verh. d. naturw. med. Vereins zu Heidelberg Bd. 6 H. 1.

50) Kölsch, K.: Untersuchungen über die Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontol. der Tiere, Bd. 16 1902.

51) Kanitz, A : Der Einfluß der Temperatur auf die pulsierenden Vacuolen der Infusorien und die Abhängigkeit biologischer Vorgänge von der Temperatur überhaupt. Biol. Centralbl. Bd. 37 1907.
52) Koltzoff, N. K.: Über formbestimmende elastische Gebilde in der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. 23 1903.
53) Khainsky, A.: Physiologische Untersuchungen über Paramäcien. Ber. d. Univ. zu Warschau 1906 oder Arb. a. d. zootom. Laborat. d. Univ. zu Warschau Bd. 35 1906. Kleiner Auszug — Biol. Centralbl. Bd. 30 1910.
54) Kühne, W.: Über den Einfluß der Gase auf die Flimmerbewegung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 2 1866.
55) Lang, A.: Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere Protozoa. Jena 1901.
56) Lachmann, C. F. J.: Über die Organisation der Infusorien, besonders der Vorticellinen. Müller's Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Med. 1856.
57) Lieberkühn, N.: Beiträge zur Anatomie der Infusorien. Müllee's Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Med. 1856.
58) Lenhossek, M. v.: Über Flimmerzellen. Verh. d. Anat. Ges. zu Kiel 1898.
59) Loeb, J.: Physikalische Untersuchungen über Jonenwirkungen. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 71.
60) —: Einfluß der Befruchtung und Zellkernzahl auf Sauerbildung im Ei. Biochem. Zeitschr. Bd. 2 1906.
61) Loew, O.: Über den verschiedenen Resistenzgrad im Protoplasma. Pflüger's Arch. f. ges. Physiol. Bd. 35 1885.
62) Maier, H. N.: Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 1903.
63) Maupas, E.: Contribution à l'étude morphologique et anatomique des infusoires ciliés. Arch. de Zool. expér. et gén. II. Sér. T. 1 1883.
64) Metschnikoff, M.: Recherches sur la digestion intracellulaires. Ann. d'Inst. Pasteur T. 3 1889.
65) Meissner: Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 46 1888.
66) Mitrophanow, P.: Étude sur la structure, le developpement et l'explosion des Trichocystes des Paramaeciens. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 1904.
67) —: Über die Bestandteile der Bacterien. Arb. a. d. zootom. Laborat. d. Univ. zu Warschau Bd. 6 1893.
68) —: Über Zellgranulationen. Biol. Centralbl. Bd. 9 1890.
69) Meyer, V. u. Jakobson, P.: Lehrbuch der organischen Chemie Bd. 2 T. I 1902, T. II 1903.
70) Nirenstein, E.: Ernährungsphysiologie der Protisten. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5 1905.
71) Nietzki, R.: Chemie der organischen Farbstoffe. Berlin 1894.
72) Nussbaum, M.: Ein Beitrag zur Lehre von der Flimmerbewegung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.
73) Peter, K.: Das Centrum für die Flimmer- und Geißelbewegung. Anat. Anz. Bd. 15 1899.
74) Prowazek, S.: Kleine Protozoenbeobachtungen. Zool. Anz. Bd. 22 1899.
75) —: Zelltätigkeit und Vitalfärbung. Zool. Anz. Bd. 24 1901.
76) —: Vitalfärbung mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 63 1898.

77) PROWAZEK, S.: Amöbenstudien. Biol. Centralbl. Bd. 17 1897.
78) —: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 1903.
79) —: Studien zur Biologie der Zelle. Ibid.
80) PÜTTER, A.: Die Atmung der Protozoen. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5 1905.
81) —: Die Reizbeantwortung der ciliaten Infusorien. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 3 1904.
82) —: Die Wirkung erhöhter Sauerstoffspannung auf die lebendige Substanz. Ibid.
83) —: Studien über Tigmotaxis bei Protisten. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., Suppl.-Band 1900.
84) PRZESMYZKI, A. M.: Über Zellkörnchen bei den Protozoen. Biol. Centralbl. Bd. 17 1897.
85) —: Über intravitale Färbung des Kernes und des Protoplasmas. Biol. Centralbl. Bd. 17 1897.
86) —: Über Zellkörnchen bei Protozoen. Arb. a. d. zootom. Laborat. d. Univ. zu Warschau Bd. 12 1894.
87) ROSSBACH: Die rhythmischen Bewegungserscheinungen der einfachsten Organismen und ihr Verhalten gegen physikalische Agentien und Ätzmittel. Arb. a. d. Zool.-zootom. Inst. in Würzburg Bd. 1 1874.
88) RHUMBLER, L.: Die verschiedenen Cystenbildungen und die Entwicklungsgeschichte der holotrichen Infusorien Colpoda. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 46 1888.
89) —: Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zellen. Arch. f. Entwicklungsmechan. d. Organismen Bd. 7 1892.
90) —: Aggregatzustand und physikalische Besonderheiten des lebenden Zellinhaltes. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 1 1902, Bd. 2 1903.
91) RŮŽIČKA, W.: Zur Frage der Färbbarkeit der lebenden Substanz. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 4 1904.
92) —: Struktur und Plasma. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 16 1906.
93) —: Zur Theorie der vitalen Färbung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 22 1905.
94) SCHEWIAKOFF, W.: Beiträge zur Kenntnis der holotrichen Ciliaten. Bibliotheca Zool. H. 5 1889.
95) SCHWALBE, G.: Über die contractilen Behälter der Infusorien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 2 1866.
96) SCHMIDT, C.: Über eigentümliche, aus dem Flimmerepithel hervorragende Gebilde. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 20.
97) SCHUBERG, A.: Über Cilien und Trichocysten einiger Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 6 1905.
98) STEIN: Der Organismus der Infusionstiere. Bd. I 1859, Bd. II 1867.
99) STOLC, A.: Über das Verhalten des Neutralrots im lebendigen Protoplasma. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 2 1903.
100) —: Beobachtungen und Versuche über die Verdauung und Bildung der Kohlehydrate bei einem amöbenartigen Organismus Pellomyxa pallustris GREEFF. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 68 1900.
101) STATKEWITSCH, P.: Galvanotropismus und Galvanotaxis bei den Ciliaten. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 6 1906.
102) VERWORN, M.: Die Bewegung der lebendigen Substanz. Jena 1892.
103) —: Psycho-physiologische Protistenstudien. Jena 1889.
104) —: Allgemeine Physiologie. Jena 1895.

105) Wallengren, H.: Inanitionserscheinungen der Zelle. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 1 1902.
106) —: Zur Kenntnis der Flimmerzellen. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5 1905.
107) Winterstein, H.: Wärmelähmung und Narkose. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5 1905.
108) Wrześniowski, A.: Ein Beitrag zur Anatomie der Infusorien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 5 1869.
109) —: Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 29 1878.
110) —: Über Infusorien. Protokolle d. Sitz. d. Sektion f. Zool. u. vergl. Anat. d. V. Versamml. russisch. Naturf. u. Ärzte zu Warschau. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 28 1877.
111) Zenker, W,: Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 2 1866.
112) Zuelzer, M.: Über den Einfluß des Meerwassers auf die pulsierende Vacuole. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin 1907.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1—4. Die äußere Struktur der Pellicula. Flächenschicht nach Längsschnitten. Fixier M. II; Färb.-F. 4 u. 7. Immers. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Zeichenapparat.

Fig. 5a u. b. Struktur der Cilien: hell — Endstücke der Cilien. Macerationspräparat. Fixier. M. IIIa; Färb.-F. 6. Immers. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Fig. 6—8. Querschnitte durch die Pellicula und das Ectoplasma. *s. b.* = Subpellicularschicht, *c. p.* = Corticalplasma, *tr.* u. *t. s.* = Trichocysten, *c.* = Cilien. Fixier. M. IIIb u. c; Färb.-F. 4 u. 7, F. 5. Immers. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Fig. 9—29. Struktur der nicht ausgeschnellten Trichocysten und die verschiedenen Stadien ihrer inneren Differenzierung. Mazerationspräparate. Fixier. M. IIIa; Färb.-F. 11, F. 6. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Fig. 30. Die ausgeschnellten Trichocysten und ihr Bau. *k.* = Kopf der Trichocysten. Macerationspräparate. Fixier. M. IIIa; Färb.-F. 6 u. 4. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Tafel II.

Fig. 31—33. Flächenschnitte durch die contractilen Vacuolen. Fixier. M. II;; Färb.-F. 1. Imm. 2 mm, Oc. N. 3. Z.-App.

Fig. 34—41. Querschnitte senkrecht zur Oberfläche durch die contractilen Vacuolen. Fig. 34—36 Neubildung der contractilen Vacuole; Fig. 37—41 verschiedene Diastolastadien. *i. p.* = invaginatio pulsatoria, *v.* = pulsierende Vacuole, *n. v.* = Nebenvacuolen, *b. v.* = Bildungsvacuolen, *z. k.* = Ende der zuführenden Kanäle. Fixier. M. II; Färb.-F. 1 oder F. 4 und F. 7. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Fig. 42—45. Querschnitt senkrecht zur Oberfläche durch die contractilen Vacuolen. *tr.* = Trichocysten, *p* = Papilla pulsatoria, *v.* = contractile Vacuole, *n. v.* = Nebenvacuolen, *z. k.* = Zuführungskanäle.

Fig. 42—45. Verschiedene Stadien der Papillenbildung.

Fixier. M. II; Färb.-F. 4 u. F. 7. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Tafel III.

Fig. 46—50. Querschnitt senkrecht zur Oberfläche durch die contractilen Vacuolen. *tr.* = Trichocysten, *p.* = Papilla pulsatoria, *v.* = contractile Vacuole, *n. v.* = Nebenvacuolen, *z. k.* = Zuführungskanäle.

Fig. 46 u. 47. Verschiedene Stadien der Papillenbildung.

Fig. 48—50. Stadien der äußeren Papille.

Fixier. M. II; Färb.-F. 4 u. F. 7. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18/10 mm. Z.-App.

Fig. 52. Die successiven Stadien der Entwicklung und Umbildung der vital mit Neutralrot gefärbten Nahrungsvacuolen. *a* = neubildende Vacuole, *b—e* = die

Nahrungsvacuolen der ersten Periode und ihr Umbildungsprozeß: Verkleinerung und Ballung des Inhaltes. *f*—*k* = die Nahrungsvacuolen der zweiten Periode: Bildung und allmähliche Eliminierung der Körnchen. *l* = Exkretvacuole.

Objekt. N 8a, Oc. N 3.

Fig. 53. Der Bau der Nahrungsvacuolen in successiven physiologischen Stadien nach Schnitten. (Bezeichnungen wie auf Fig. 52.) Fixier. M. II; Färb.-F. 1. Imm. 2 mm, Oc. 3. Z.-App.

Fig. 54—56. Längsschnitte durch die Paramäcien.

sch = Schlund. Nv_1—Nv_7 = die verschiedenen histologischen Stadien der Nahrungsvacuolen: Nv_1 = neubildende Vacuole, Nv_2—Nv_4 = Nahrungsvacuolen der ersten Periode, Nv_5—Nv_7 = Nahrungsvacuole der zweiten Periode; *e. v.* = Exkretvacuole; *P. v.* = pulsierende Vacuole: *M. n.* = Macronucleus, *m. n.* = Micronucleus. Fixier. M. II; Färb.-F. 1. Imm. 2 mm, Oc. N 3. Z.-App.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Beiträge zur Kenntnis des *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet.

Von
Alfred L. Buschkiel.

(Hierzu Tafel IV u. V und 1 Textfigur.)

Einleitung.

Als im Frühjahr 1909 in einigen meiner Aquarien *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet in großen Mengen auftrat, folgte ich einer Aufforderung des Herrn Prof. Dr. R. Hertwig und begann den noch nicht ganz einwandfrei dargestellten Entwicklungscyclus dieses Infusors einer neuen Untersuchung zu unterziehen.

Für diese Anregung und die vielseitige Unterstützung, die mir während der Arbeit zuteil wurde, sage ich Herrn Prof. Dr. Hertwig herzlich Dank.

Wesentlich gefördert wurden meine Untersuchungen durch die freundliche Hilfe des Herrn Prof. Dr. Goldschmidt. Ihm sowie dem stets hilfsbereiten Herrn Dr. Jörgensen, dem zweiten Assistenten des Instituts, bin ich sehr verbunden.

Für die Beschaffung eines Teiles meines Materials danke ich Herrn Küsthard, Inspektor an der zoologischen Sammlung des Staates in München, und Herrn Riedel, dem Vorsitzenden des Vereins für Aquarien- und Terrarienkunde „Wasserstern“ in Augsburg.

Historisches.

Über die älteren Arbeiten werde ich mich sehr kurz fassen, da NERESHEIMER (1908) eine ausführliche Literaturbesprechung gebracht hat. Zuerst beobachtet und beschrieben wurde der Parasit von HILGENDORF und PAULICKI (1869); FOUQUET (1876) stellte den Namen *Ichthyophthirius multifiliis* auf. KERBERT (1884) beschrieb unter dem Namen *Chromatophagus parasiticus* ein auf Fischen schmarotzendes holotriches Infusor, das der FOUQUET'schen Beschreibung zwar nicht in allen Punkten entsprach, später aber dennoch mit *Ichthyophthirius* identifiziert wurde. BÜTSCHLI (1887) reihte die Art der Gattung *Holophrya* EHRBG. ein. ZACHARIAS (1892) beschrieb eine neue Species: *Ichthyophthirius chrysoptomus*. Ob sie mit der erstgenannten identisch ist, läßt sich nicht bestimmt entscheiden. STILES (1894) stellte das Vorkommen von *Ichthyophthirius*-Seuchen in Nordamerika fest.

Schon die Entdecker des Parasiten beschrieben seine Vermehrung. Sie beobachteten, daß der Schmarotzer den Fisch verlasse, sich am Boden des Behälters festsetze, eine Cyste ausscheide, durch eine Anzahl aufeinanderfolgender Teilungen eine große Menge Sprößlinge bilde und daß diese nach Sprengen der Hülle ausschwärmten. FOUQUET fand einen Micronucleus in den ausgeschlüpften Sprößlingen. BÜTSCHLI nahm an, daß der Micronucleus stets vorhanden, aber nur in den eben der Cyste entschlüpften Tieren gut sichtbar sei. Fast der gleichen Ansicht waren DOFLEIN (1901) und HOFER (1904). Jener glaubte, daß der Micronucleus erst sichtbar werde, wenn innerhalb der Cyste die Nahrungskörper aufgebraucht seien (z. B. nahm er sie im 128er Teilungsstadium wahr), dieser spricht direkt von einem schwer zu beobachtenden Nebenkern des erwachsenen Tieres.

Erst 1904 wurde durch CLEVISCH die Entstehung des Nebenkerns beschrieben.[1]) Unabhängig von diesem Autor behandelte NERESHEIMER (1907, 1908) den Vorgang nochmals. CLEVISCH gibt an, daß im 8er und 16er Teilungsstadium im Macronucleus eine chromatische Ansammlung erscheine, die im 32er Stadium zu einem Streifen in der Äquatorialebene werde; die folgende Teilung erstrecke sich auch auf diese Chromatinmenge. Bei der Abrundung nach der

[1]) Die Arbeit erschien als Dissertation in Bern mit der Überschrift: „Aus dem Zoologischen Institut München", war aber nicht von Herrn Prof. Dr. HERTWIG genehmigt und wurde im hiesigen Institut erst durch Citierung in ROTH's Aufsatz bekannt.

Teilung eliminiere der Hauptkern ein Chromatinklümpchen, das sich zur Nebenkernspindel entwickle. Clevisch beschreibt die Umbildung des Abschnürungskörpers zur Spindel recht eingehend, insbesondere die Entstehung der achromatischen Fasern, das Erscheinen von Chromosomen und die Bildung der Äquatorialplatte. Der Nebenkern beteiligt sich bei den folgenden Teilungen. Mit der Teilung vom 128er zum 256er Stadium hat nach Clevisch die Vermehrung ihr Ende erreicht. Die Kerne sollen in ein Ruhestadium übergehen. Schließlich erwähnt Clevisch noch, daß er manchmal im 64er und 128er Stadium noch Chromatinanhäufungen im Hauptkern wahrgenommen habe, während der Micronucleus schon vorhanden war.

Neresheimer's Darstellung von der Vermehrung unseres Infusors weicht von den Angaben der genannten Autoren wesentlich ab. Außer der Vermehrung durch aufeinanderfolgende Teilungen beschreibt er eine Zerfallsteilung. Das vom Wirte abgewanderte Infusor zerfalle — ohne oder mit vorausgegangener Cystenbildung — spontan in sehr viele Sprößlinge, die zur Neuinfektion von Fischen befähigt seien. Neresheimer nennt diesen Vorgang „multiple Teilung“. Sie soll noch besonders charakterisiert sein durch das Fehlen eines Micronucleus. Bei denjenigen Teilstücken jedoch, die durch aufeinanderfolgende Teilungen entstehen, beobachtete auch Neresheimer einen Micronucleus. Über die Entstehung dieses Nebenkerns macht er Angaben, die denen von Clevisch wesentlich widersprechen. Der Hauptkern zeige bei den ersten Teilungen in der Cyste ein gleichmäßiges Aussehen; wenn etwa 2—3 Dutzend Teilstücke von etwa je 100 μ Durchmesser entstanden seien, wölbe sich mit einem Male eine kompakte, stark färbbare Masse vor, die dann aus dem Kern heraustrete und sich eine Strecke weit von ihm enferne. Nachdem die Verbindung zwischen dem neuen Gebilde und dem Macronucleus verschwunden sei, nähme es den Charakter eines Nebenkerns an, indem es bei den folgenden Teilungen sich gleichfalls teile. So entstünden durch fortgesetzte Teilungen in der Cyste kugelige Individuen von etwa 40 μ im Durchmesser, in denen Haupt- und Nebenkern deutlich wahrzunehmen seien. Der Nebenkern aber beginne schließlich sich allein zu teilen, und so entstünden erst 2, dann 4 Micronucleen. Von diesen fielen 3 der Auflösung anheim, 1 aber teile sich nochmals und ergäbe 2 Geschlechtskerne. Während der letzten Vorgänge seien die Sprößlinge der Cyste entschlüpft.

Neresheimer versuchte vergeblich eine Conjugation der Sprößlinge zu beobachten, dagegen fand er, daß in den jungen Schmarotzern in der Haut der Fische Vorgänge stattfinden, die sich als Befruchtung

deuten lassen. Die jungen Parasiten zeigen häufig zwei nahe beieinanderliegende Micronucleen, die NERESHEIMER für verschmelzende Geschlechtskerne erklärte. Aus der Verschmelzung gehe ein spindelförmiges Syncarion hervor und dieses wandere in den Hauptkern ein, wo es verschwinde. Der Autor glaubte annehmen zu dürfen, daß die verschmelzenden Nebenkerne beide demselben Individuum entstammten, daß also eine autogame Befruchtung vorläge.

Außer den beschriebenen Vermehrungsweisen nahm NERESHEIMER auch noch Teilungen des erwachsenen Infusors in der Haut des Wirtstieres an, zwar sei dieser Vorgang selten.

ROTH (1908) will weder den letztgenannten Entwicklungsmodus, noch die „multiple Teilung“ als normal ansehen. Er glaubt, daß NERESHEIMER sich vielfach durch pathologische Erscheinungen habe täuschen lassen.

Material und Methoden.

Das Vorkommen des *Ichthyophthirius*.

Sehr zahlreich sind in der wissenschaftlichen Literatur die Nachrichten über das Vorkommen von *Ichthyophthirius* nicht. Einen Begriff von der Häufigkeit der durch das Infusor hervorgerufenen Fischkrankheit erhält man erst, wenn man die volkstümliche Literatur der Fischzüchter und Aquarienliebhaber verfolgt. Alle Berichte zeugen nur von dem Auftreten des Parasiten in Aquarien, größeren Aufzuchtbehältern und Teichen der Fischwirtschaften.

Zwar wurde in einigen Fällen (vgl. FOUQUET und STILES) auf eine unmittelbare Infektion aus offenen Gewässern geschlossen. Aus eigener Erfahrung kann ich das Vorkommen des Schmarotzers in Wildgewässern nur vom „Altrhein“ bei Breisach, vielfach ausgebuchteten Nebenarmen des Oberrheins und einigen Bächen in der Nähe Freiburgs i. Br. bestätigen. Es scheint aber im allgemeinen recht selten vorzukommen, daß mit *Ichthyophthirius* behaftete Fische in Wildgewässern gefangen werden.

Dagegen kommt im Widerspruch mit den Auffassungen NERESHEIMER's und ROTH's der Parasit in Aquarien, wie schon bemerkt, recht häufig vor. Es würde zu weit führen, wollte ich die vielen Fälle von Ichthyophthiriasis, die ich an verschiedenen Orten festgestellt habe, aufzählen; es sei nur bemerkt, daß ich in den ersten

3 Monaten der vorliegenden Untersuchungen von 6 *Ichthyophthirius*-Infektionen, die in keinem Zusammenhang standen, Kenntnis erhielt.

Daß es sowohl Clevisch wie Neresheimer und Roth so viele Schwierigkeiten bereitete, in den Besitz von Material zu gelangen, hat nicht eine Seltenheit des Materials zur Ursache.[1])

I. Teil.

Die Kultivierung des *Ichthyophthirius*.

Die Kultur des Parasiten im Aquarium.

Zur systematischen Kultivierung des Parasiten wurden vorwiegend Aquarien benutzt, die schon seit längerer Zeit bepflanzt und von Fischen bewohnt gewesen waren, mithin pflanzlichen und tierischen Detritus enthielten. In diesen Behältern war für die Parasiten wie für ihre Wirte, die Fische, in der Regel genügend sauerstoffreiches Wasser. Nur wenn die kleineren der Aquarien sehr reichlich mit Fischen beschickt waren, mußte bei heißer Witterung eine künstliche Durchlüftung zu Hilfe genommen werden, jedoch weniger der Schmarotzer als ihrer Wirte wegen; denn die Ichthyophthirien scheinen während des parasitischen Lebens recht geringe Ansprüche an den Sauerstoffgehalt des Wassers zu stellen. Der von Neresheimer angegebene Fall, wo bei starker Luftdurchleitung die Ichthyophthirien starben, während ein Bachsaibling am Leben blieb, darf nicht verallgemeinert werden. Ich habe in früheren Jahren Ichthyophthiriasis an sehr anspruchslosen Fischen (Labyrinthfischen und Cypriniden) in den primitivsten Behältern verfolgt, worin Saiblinge zweifellos bald gestorben wären. Es wäre denkbar, daß die Widerstandsfähigkeit des Schmarotzers verschieden ist, je nach den Umständen, an die er sich in mehr oder weniger langer Zeit angepaßt hat.

---

[1]) Dies zeigt z. B. folgende Tatsache: Trotz einiger Annoncen in Aquarienliebhaberzeitschriften erhielt ich keinen einzigen ichthyophthiriuskranken Fisch, obgleich, wie ich zufällig erfuhr, zu dieser Zeit in verschiedenen Aquarien infizierte Fische vorhanden waren. Ich mußte die Aquarienbesitzer meist persönlich aufsuchen, um in ihren Behältern das Gewünschte zu finden. Vielfach wußten sie gar nicht, daß ihre Fische infiziert seien.

Als Träger der Kultur gebrauchte ich folgende Fischspecies:

Amiurus nebulosus Rafin.
Carassius vulgaris Nils.
Tinca vulgaris Cuv.
Leuciscus phoxinus (L.)
„ *idus* (L.)
„ *rutilus* (L.)
Rhodeus amarus (Bl.)
Eupomotis gibbosus (L.)
Lepomis auritus (L.)
Heros facetus (Steind.).

Bei den künstlichen Infektionen verfuhr ich zuerst folgendermaßen: In ein mit gesunden Fischen besetztes Aquarium wurden die Parasiten hineingetan, entweder solche, die soeben von kranken oder toten Fischen abgewandert waren, oder solche, die sich encystiert hatten. Die Erfahrung lehrte mich, daß es besser ist, sogleich den toten oder sterbenden infizierten Fisch in das Aquarium zu tun. Dann sieht man die Parasiten den Wirt verlassen und sich zur Encystierung an den Boden des Gefäßes oder an Wasserpflanzen anheften.

Nach ungefähr 32 Stunden fand ich die aus der Teilung innerhalb der Cyste hervorgegangenen Sprößlinge auf den Fischen. Das Heranwachsen dieser jungen Parasiten werde ich in einem anderen Kapitel besprechen. Die Übertragungen gelangen aber auch, wenn ich die gesunden Fische in ein Aquarium setzte, welches stark infizierte beherbergte, dort nur wenige Stunden ließ und dann separierte. Daraus ist zu schließen, daß die Parasiten, auch bevor der von ihnen heimgesuchte Fisch dem Tode nahe ist, abwandern und Urheber einer neuen Infektion werden können.

Es ergibt sich somit die Frage, ob der abgewanderte Parasit direkt auf den neuen Wirt übergeht, oder ob er sich durch Teilungen innerhalb einer Cyste vermehrt und erst seine Sprößlinge die Neuinfektion hervorrufen. Für letzteres sprechen die Befunde; denn die neuen Infektionen lassen sich wie bei der oben beschriebenen anderen Infektionsmethode erst nach ca. 32 Stunden nachweisen und bestehen aus kleinen Sprößlingen.

Die Übertragung der Parasiten kann auch mittelbar erfolgen. Z. B. kommen Schnecken dafür in Betracht. Auf den Schalen von Planorben fand ich wiederholt encystierte Ichthyophthirien, jedoch ließen sich die Schmarotzer nie an Weichteilen von Schnecken feststellen.

Für die Fischereipraxis von gewisser Wichtigkeit scheint mir folgender Befund: Wenn ich aus den infizierten Aquarien die Fische entfernte, konnten nach 60 Stunden neue Tiere hineingesetzt werden, ohne daß sie infiziert wurden. Die Parasiten im Aquarium waren ausgestorben. Setzte ich dagegen bereits 32—40 Stunden nach Entfernen der kranken Fische die gesunden hinein, so kam in einigen Fällen die Infektion noch zustande. Vorausgesetzt, daß bei den wenigen Versuchen keine Zufälle das Resultat hervorgerufen haben, darf man annehmen, daß die Parasiten, welche sich nach dem Entfernen der kranken Fische im Aquarium befanden, Sprößlinge bildeten und daß diese nur kurze Zeit ohne einen Wirt leben konnten.

Die Übertragungen gelangen ohne merklichen Unterschied von einer der oben genannten Fischart auf die andere. Die Liste infizierbarer Fische ließe sich leicht vergrößern, im allgemeinen scheint keine Species gegen den Parasiten gefeit zu sein. Deshalb ist es sehr auffällig, daß es mir nicht gelang, *Umbra crameri* Fitz. zu infizieren, obgleich ich es an 6 Exemplaren wiederholt unter den günstigsten Bedingungen versuchte. Wo der Grund des Mißerfolges gelegen, vermag ich nicht anzugeben. Neresheimer hatte bei mehreren Übertragungsversuchen von einer Art auf die andere kein Glück und glaubte dem Mißlingen der Versuche Bedeutung beilegen zu dürfen. Er ließ sich dadurch in der Vermutung bestärken, daß wir es mit verschiedenen Arten oder Rassen von *Ichthyophthirius* zu tun hätten, die den verschiedenen Wirtsarten speziell angepaßt seien. Hierin mich dem Autor anzuschließen vermag ich angesichts der wenigen vorliegenden Beobachtungen nicht. Mir sind weder während dieser Untersuchungen, zu denen neben Material gleicher Herkunft anderes aus örtlich sehr verschiedenen und höchstwahrscheinlich voneinander unabhängigen Quellen benutzt wurde, noch in früheren Jahren, wo ich zweifellos verschiedene *Ichthyophthirius*-Stämme untersuchen konnte, Unterschiede bemerkbar geworden, die auf verschiedene Rassen, geschweige Arten schließen ließen.

Wenn auch der Hauptzweck meiner Kulturen war, möglichst viel Material für celluläre Untersuchungen zu ergeben, versuchte ich durch möglichst lang fortgesetzte, von einem Stamm ausgehende Reinzüchtung zu neuen Aufschlüssen über die Biologie des Parasiten zu gelangen. Insbesondere drängte sich die Frage auf, ob im Laufe der Kulturen Depressionserscheinungen auftreten würden. Die systematische Kultivierung begann anfangs März und endete im September, aber sie bestand nicht aus einer ununterbrochenen Weiterzüchtung eines Stammes, sondern ich mußte hin und wieder neues, fremdes

Material zu Hilfe nehmen. Die erste Reinkultur eines Stammes ging von 5 Individuen aus, die von einem sterbenden Fisch abgewandert waren. Diese encystierten sich und bildeten Sprößlinge, welche 3 in das Aquarium gesetzte Fische infizierten. Nach Verlauf einer gewissen Zeit, über die ich an anderer Stelle sprechen werde, waren die Parasiten herangewachsen, wanderten wieder vom Fisch ab, lieferten neue Sprößlinge usw. Wenn ich die 5 Tiere, von denen ich ausging, als erste Generation zähle, ihre Sprößlinge als zweite usw., ist die Zahl der ununterbrochen gezüchteten Generationen meiner am längsten fortgesetzten Kultur 10. Eine andere Kultur umfaßte 8, eine weitere 6, eine vierte 5 Generationen.

Daß es mir nicht gelang, die Dauerkulturen weiter fortzusetzen, war in widrigen Zufällen begründet, die einen frühen Tod der Wirtstiere herbeiführten. Wenn der Fisch wenige Tage nach der Infektion stirbt, gehen die Parasiten mit ihm zugrunde, da sie noch nicht die Fähigkeit haben, sich zu encystieren und zu teilen, und auch nicht direkt einen neuen Wirt aufsuchen.

Die Dauerkulturen gaben mir neben anderen, die nicht aus dem gleichen Stamm gezüchtet waren, in verschiedenen Generationen Untersuchungsmaterial. Bei der vergleichenden Betrachtung der einzelnen Generationen habe ich keine Erscheinungen gefunden, die sich als Produkt periodischer Depressionen auffassen ließen.

Dennoch scheinen mir nicht immer gleiche Verhältnisse zu herrschen. Dies äußerte sich in der Erscheinung, daß im Spätsommer und im Herbst die Kultivierung mehr Schwierigkeiten bot als vorher, gegen den Winter konnte ich sogar überhaupt keine Neuinfektionen mehr erzielen.

Im Vergleich hiermit fällt es auf, daß die Mehrzahl der beschriebenen *Ichthyophthirius*-Seuchen im Frühjahr und Sommer herrschte. So gibt Fouquet an, daß in den „bassins de pisciculture du College de France“ 10 Jahre lang die Ichthyophthiriasis Ende Mai auftrat und gegen August von selbst erlosch. Stiles beobachtete eine große Seuche in Nordamerika im Juli, Kerbert sah den Parasiten in den Behältern des Amsterdamer Aquariums am Ende des Winters auftreten, Neresheimer erhielt, einer freundlichen Mitteilung des Herrn Prof. Dr. Doflein zufolge, sein bestes Material auch in der ersten Hälfte des Jahres, und Roth glaubt, laut brieflichem Bericht, die stärksten Infektionen ebenfalls zu dieser Jahreszeit gesehen zu haben.

Man gewinnt so den Eindruck, daß der *Ichthyophthirius* vorwiegend nur im Spätwinter, Frühjahr und Vorsommer in großen,

verheerenden Mengen auftritt. Daß dieses periodische Auftreten nicht eine unmittelbare Folge der Temperatur ist, scheint mir dadurch erwiesen, daß *Ichthyophthirius*-Seuchen bei recht verschiedenen Wärmegraden beobachtet wurden. Kerbert gibt z. B. an, daß in seinen Aquarien *Ichthyophthirius* bei 8,5° C. auftrat, Stiles konstatierte den Parasiten bei 23,3° C. In meinen Aquarien war die Wassertemperatur im Herbst, als die Kultur einging, nicht niedriger als im Frühjahr, nämlich durchschnittlich 17—18° C.

Die Kultur der vom Fisch abgewanderten Ichthyophthirien.

Für die Kultivierung der Vermehrungsstadien verwendete ich nach vielen Versuchen zum Teil Uhrschälchen von ca. 8 cm im Durchmesser oder Petrischalen gleicher Größe. In jede Schale kamen 3—6 Ichthyophthirien. Die meisten Tiere jedoch züchtete ich in schwarzen Schalen aus Papiermasse (Größe 15×20 cm), wie sie in der photographischen Technik gebraucht werden. Diese Schalen bieten die große Annehmlichkeit, daß man die weißen Infusorien gut sieht und von der glatten lackierten Fläche leicht abnehmen kann. In einer solchen Schale ließen sich gleichzeitig über 100 Cysten züchten.

In die Uhrschälchen legte ich einen Algenfaden, damit sich die Infusorien leicht festsetzen könnten. Es bereitet jedoch oft Schwierigkeiten, vor oder nach der Fixierung die Cyste von dem bei der mikroskopischen Untersuchung störenden Algenfaden abzulösen.

Bei den Entwicklerschalenkulturen waren die Algenfäden überflüssig, da sich die Tiere auf dem lackierten Boden trotz seiner Glätte bald festsetzten. In diesen Gefäßen kam es auch nur selten vor, daß sich mehrere Tiere aneinander hefteten, während in den Uhrschälchen sich manchmal Ketten von 4—7 aneinanderklebenden Ichthyophthirien vorfanden.

Die Technik.

Für die meisten Präparate verwendete ich zur Fixierung Pikrinessigsäure, zur Färbung Boraxkarmin. Einige Schwierigkeit bot die Differenzierung. Die schönsten Bilder erhielt ich bei 48—62 stündiger Färbung in etwas verdünnter Boraxkarminlösung und langer Differenzierung in salzsaurem Alkohol mit Glycerinzusatz.

Sämtliche Stücke wurden zunächst als Totalpräparate in Nelkenöl untersucht, ein Teil wurde später geschnitten. Die Schnittdicke

wurde je nach der Größe der betreffenden Cysten und ihrer Teilstücke verschieden gewählt, für die kleineren 5, für die größeren 7,5 und 10 μ. Vielfach gaben Zertrümmerungspräparate in Nelkenöl besseren Aufschluß als Schnitte. Selbst die zertrümmerten Cysten wurden mitunter noch geschnitten und ergaben in manchen Fällen brauchbare Bilder.

Im allgemeinen genügt für die Schnitte Stückfärbung in Boraxkarmin. Heidenhain'sches Hämatoxylin gab keine günstigen Resultate, da sich eine schöne Differenzierung der Kerne nicht erreichen ließ. Eine gute Färbung gab dagegen Delafield'sches Hämatoxylin.

Das parasitäre Stadium.

Mikroskopische Untersuchungen.

Das parasitäre Stadium des *Ichthyophthirius* beginnt mit der Einwanderung des der Cyste entschlüpften, ungefähr 25—30 μ großen Sprößlings in die Epidermis des Fisches.

Schon Fouquet hatte beschrieben, wie der junge Schmarotzer in die Haut des Wirtes eindringt. Seine Beobachtungen decken sich ungefähr mit denen Neresheimer's, welcher die Ansiedelung des Infusors an besonders günstigem Material verfolgen konnte. Neresheimer brachte ein Brutfischchen von 8 mm Länge mit einigen *Ichthyophthirius*-Cysten, die kurz vor der Sprengung standen, auf einen hohlgeschliffenen Objektträger unter ein Deckglas. Die der Cyste entschlüpfenden Tierchen setzten sich zu mehreren an dem Fischchen fest. Die Art des Einbohrens ließ sich genau verfolgen. Das Infusor begann sehr lebhaft immer in der gleichen Richtung zu rotieren, bald lösten sich Epithelzellen los, flottierten zum Teil im Wasser, zum Teil aber blieben sie den Parasiten wie ein Ringwall umgebend liegen. Allmählich geriet das Infusor in tiefere Schichten und konnte nicht mehr so gut beobachtet werden.

Ähnlich wie Neresheimer beobachtete ich das Einbohren des Parasiten an einem 10 Tage alten Fischchen (*Macropodus viridiauratus* Lacép.). In seitlicher Ansicht repräsentierte sich der Parasit in einer keulen- oder flaschenkürbisähnlichen Form. Er rotierte um seine Achse und beschrieb zugleich mit seinem freien, dickeren Ende einen Kreis. Das Epithel des Fisches wurde kaum wahrnehmbar zerstört.

Roth verfolgte das Einbohren des Infusors an Flossenstückchen, die er kurz zuvor einem lebenden Fisch amputiert hatte. Als er

diese Stückchen mit den Sprößlingen zusammengebracht hatte, nahm er wahr, wie ein Tierchen „augenscheinlich“ in dem die Flosse überziehenden Schleim stecken blieb. Die rotierende Bewegung wurde verlangsamt, dafür aber um so kräftiger; es drehte sich offenbar einen Widerstand, die Schleimschicht, überwindend, mehr ruckweise, aber immer im gleichen Sinn herum, ungefähr eine Bohrbewegung markierend, wie wir sie mit einem Korkzieher ausüben. Schließlich hatte sich der Parasit eine Höhle im Flossenepithel geschaffen.

Fast in gleicher Weise konnte ich das Einbohren des Schmarotzers auch an Flossenstücken verfolgen, die ich einem gerade infizierten Fisch abschnitt. Ich hatte tags zuvor mehrere Cysten in ein kleines unbepflanztes Aquarium, das einen gesunden Fisch beherbergte, gebracht. Als besondere Merkwürdigkeit zeigte sich, daß an manchen Stellen 2, 3 ja bis 10 Sprößlinge eng nebeneinander sich in das Epithel einzubohren suchten. Manche saßen schon zu mehreren zwischen den Epithelzellen in einem engen Hohlraum.

Roth versuchte auf abgeschnittenen Flossenstücken die Entwicklung des jungen Schmarotzers im Leben zu verfolgen. Er glaubte an ganz jungen Parasiten schon eine Formveränderung wahrnehmen zu können. Die ursprüngliche Form ist nach seiner Ansicht eine flaschenkürbisähnliche, aber schon „um weniges größere Individuen“ sollen Kugelform angenommen haben.

Flaschenkürbisähnliche oder keulenartige Formen bildete auch Fouquet ab, Neresheimer dagegen runde und ovale. Ich fand unter den jüngsten Infektionen alle drei Formen vertreten. Aus den Formverschiedenheiten und etwaigen minimalen Größendifferenzen auf das Alter der Parasiten zu schließen, erscheint mir sehr gewagt. Ich halte es für möglich, daß die keulenähnliche Form eine Wirkung der Centrifugalkraft bei der rotierenden Bewegung des Infusors ist. Daß sich die Form des Tierchens leicht ändert, zeigt sich an den ausschlüpfenden Sprößlingen und an den zu mehreren in einer Höhlung innerhalb des Fischepithels liegenden.

Bei 6 Tage alten Infektionen sehen wir die Parasiten ganz deutlich innerhalb der Epithelhohlräume sich bewegen. Schnitte dieses und älterer Stadien lassen eine starke Epithelwucherung um die Hohlräume erkennen.

Inzwischen ist auch die innere Organisation des Parasiten anders geworden. Die jüngsten Stadien wiesen einen rundlichen oder wenig länglichen Hauptkern und meist auch einen Nebenkern auf. Bei den älteren Tieren ist der Macronucleus in die Länge gezogen oder schon

wurstförmig gekrümmt, wie es für den erwachsenen Parasiten charakteristisch ist. Der Micronucleus ist verschwunden. Näheres über die Kernverhältnisse wird der zweite Teil der Arbeit bringen.

Makroskopische Untersuchungen.

Dem bloßen Auge zeigt sich der *Ichthyophthirius* als ein meist scharf umrandeter weißer Punkt auf der Haut des Fisches. Von einer Wucherung des Epithels umkapselt sitzt er auf Flossen und Rumpf. Die Flossen scheinen am häufigsten infiziert zu werden, insbesondere fand ich, daß Bauch-, Schwanz- und Rückenflosse vielfach heimgesucht werden, dagegen die Brustflosse weniger, was vielleicht eine Folge ihrer fast ununterbrochenen Bewegungen bei den meisten der beobachteten Fischarten ist. Bei starker Infektion dringen die Parasiten auch in die Kiemen des Wirtes ein. Ich bin geneigt, nicht nur wie Neresheimer die Kiemeninfektion für besonders gefährlich anzusehen, sondern sie im allgemeinen als die Todesursache bei der Ichthyophthiriasis zu betrachten, da die sterbenden Fische stets starke Atemnot zeigten und die gestorbenen in allen Fällen Parasiten innerhalb der Kiemen beherbergten.

Die Zahl der Parasiten auf dem Fisch ist oft ganz ungeheuer groß. Z. B. hatte eine künstliche Infektion, zu der ich 10 Cysten verwendet hatte, zur Folge, daß eine Ellritze mit Ausnahme einiger kleiner schwach besetzten Stellen über den ganzen Körper von *Ichthyophthirius*-Kapseln bedeckt wurde.

Mit bloßem Auge sieht man selbst so starke Infektionen erst geraume Zeit nach der Ansiedelung der Sprößlinge auf dem Fisch. Da meine Kulturen nicht bei gleichmäßiger, sondern schwankender Temperatur (Zimmerwärme) geführt wurden, kann ich keine genauen Maßangaben über die Entwicklung des Parasiten machen. Die Durchschnittstemperatur meiner Aquarien betrug 17° C. Es ließen sich in der Regel am 10. Tage nach der Infektion die Parasiten mit unbewaffnetem Auge eben erkennen. Erst ungefähr vom 14. Tage ab waren sie so groß, daß man in ca. $^1/_2$ m Abstand vom Aquarium sie erkennen konnte (ca. 0,75 mm im Durchmesser). Da ich bei heißer Witterung (ca. 21° C) schon 8 Tage nach der Infektion große Ichthyophthirien auf den Fischen fand, scheinen mir die Temperaturverhältnisse eine große Rolle zu spielen. Inwiefern andere Umstände, z. B. die Ernährung, für das Wachstum von Bedeutung waren, ließ sich nicht feststellen.

Neresheimer fand auf großen Barben Ichthyophthirien von 1 mm im Durchmesser, auf kleinen Fischen aber „Pigmäenformen

von höchstens 200—300 μ Durchmesser“. Diese Differenzen möchte der Autor als Rassenverschiedenheiten auffassen. Wie ich schon an anderer Stelle sagte (p. 67), hält es NERESHEIMER für wahrscheinlich, daß sich die Ichthyophthirien an die Wirtsart anpassen können und zwar „im Verlauf einer längeren Seuche“.

Da ich nur kleinere Fische (4—15 cm lang) für die Infektionen verwendete und auf diesen sehr verschiedene Größen von Parasiten fand, kann ich mich der NERESHEIMER'schen Auffassung nicht anschließen. Zwar kamen 1 mm große Exemplare nur vereinzelt, 0,75 mm messende jedoch regelmäßig vor.

Der Tod der Fische trat meistens ungefähr 14 Tage nach Beginn der Infektion ein, oft aber schon zwischen dem 10. und 14. Tage. Starben die Fische nicht, so verschwanden ungefähr am 16. oder 17. Tage die Parasiten. Sie wanderten vom Wirt ab, encystierten sich, und nach einigen Tagen ließ sich eine neue Infektion feststellen. Mehrfach konnte ich das Heranwachsen dieser neuen Generation auf denselben Fischen wie die vorige verfolgen. In manchen Fällen erlagen die Fische nach der zweiten Infektion den Schmarotzern. Es kam aber auch vor, daß die inzwischen herangewachsenen Parasiten wieder abwanderten und ihre Sprößlinge eine dritte Infektion der gleichen Fische hervorriefen. In einigen Fällen erlag der Wirt selbst der dritten Krankheit nicht. Solche Tiere zum vierten Male zu infizieren mißlang mir.

Diese Tatsache brachte mich auf die Frage, ob die Fische immun werden können. Ich versuchte deshalb, so oft ich Material zur Verfügung hatte, schon einmal erkrankte und genesene Fische aufs neue zu infizieren. In verschiedenen Fällen gelang mir dies auch, aber meistens war der Versuch vergeblich. Eine dritte Infektion gelang nur bei ganz wenigen der angestellten Versuche.

Zur Kontrolle setzte ich bei zwei Versuchen die schon einmal infiziert gewesenen Fische mit frisch beschafften zusammen in das verseuchte Aquarium. Jene blieben gesund, diese aber waren bald stark von Schmarotzern heimgesucht.

Da aber auch bei frischem Material die künstliche Infektion manchmal, wenn auch verhältnismäßig selten, mißlang, genügen meine Versuche kaum zur Beantwortung der interessanten Frage. Mangel an Fischen, welche die Krankheit ein- oder gar mehrmals überstanden hatten, machte weitere Versuche unmöglich.

Die Vermehrung der Parasiten auf dem Wirt.

ZERNECKE (1897) fand in der Fischepidermis zwei aneinanderliegende Ichthyophthirien und hielt sie für „in der Teilung begriffen“. Die Abbildung des Autors beweist aber, wie ROTH schon richtig bemerkte, daß es sich nicht um eine Teilung handelt, da beide Individuen den normalen wurstförmigen Kern aufweisen.

Wichtiger ist ein Befund NERESHEIMER's. Der Autor sah „viele Hunderte“ Ichthyophthirien auf Fischen, ohne ein Teilungsstadium zu finden. „Erst ganz zuletzt sah“ er ein Tier, „das in einer nicht ganz äqualen Zweiteilung begriffen war. Ich konnte,“ berichtet NERESHEIMER, „die Teilung bis zu Ende verfolgen und habe damit den Nachweis gebracht, daß der *Ichthyophthirius*, wenn auch vielleicht nur ausnahmsweise, sich in der Fischhaut durch Teilung fortpflanzen kann.“

ROTH schloß sich dieser Auffassung nicht an. Er wies darauf hin, wie leicht eine Täuschung möglich ist, da die nebeneinander in einem Hohlraum zwischen der Epidermis sitzenden Ichthyophthirien so übereinander liegen können, daß man nur ein Tier sieht. Wenn sie ihre Lage verändern, kann der Beobachter leicht glauben, eine Teilung vor sich zu haben. Besonders wahrscheinlich scheint es ROTH, daß NERESHEIMER nicht eine Teilung in der Haut, sondern in dem auf der Haut befindlichen Schleim beobachtete.

Zur Klärung der Frage, ob sich der Parasit auch innerhalb des Fischepithels teilt, habe ich viel Material geopfert. Aber weder unter dem konservierten noch dem lebenden Material fand ich Teilungsstadien. In einem Falle glaubte ich endlich eine Teilung in der Haut gefunden zu haben. Ich hatte einem lebenden Fisch ein Stück von einer Flosse abgeschnitten und beobachtete unter dem Mikroskop die darauf befindlichen Parasiten, aber in der Tat war es eine Teilung auf, nicht in der Epidermis.

Nach ZACHARIAS, STILES und ROTH findet man auch Cysten auf der Haut des Fisches. NERESHEIMER meint, daß solche Cysten zufällig angeklebt seien. Hiergegen spricht, daß ROTH einen encystierten Parasiten innerhalb der Epidermis eines Fisches und ferner eine Fischleiche mit vielen Cysten fand. Derartige Fälle kommen jedoch nur selten vor und sind, wie mir scheint, als anormale Bildungen anzusehen, oder man müßte annehmen, daß der Cystenbildung auf toten Fischen schon ein Abwandern des Parasiten vom Wirt und ein Neuanheften vorausgegangen seien; denn daß tatsächlich die

abgewanderten Infusorien manchmal statt an dem Boden des Behälters oder an Pflanzen sich zur Encystierung auf Flossenstücken oder Epithelfetzen festsetzen, habe ich beobachtet.

Der *Ichthyophthirius* nach der Abwanderung vom Wirt.

Beobachtungen am lebenden Tier.

Meist beginnt schon, wenn der von den Schmarotzern zugrunde gerichtete Fisch sich dem Tode nähert, die Abwanderung, jedoch die Mehrzahl der Parasiten entfernt sich erst, wenn der Wirt verendet ist. Die größeren Ichthyophthirien scheinen zeitiger abzuwandern als die kleineren. Von diesen findet man noch eine beträchtliche Zahl einige Stunden später auf der Fischleiche.

Daß ich auch ein Abwandern der Parasiten bei Fischen wahrgenommen, die der Krankheit nicht erlagen, wurde bei der Besprechung des parasitären Stadiums erörtert. Auch ergab sich aus einer der beschriebenen Infektionsmethoden, daß vereinzelte Ichthyophthirien den lebenden Fisch verlassen und durch Teilung in einer Cyste neue Parasiten bilden. Es besteht auch die Möglichkeit, daß die einzelnen Individuen gewaltsam vom Fische abgestreift wurden. Man sieht häufig, wie sich die heimgesuchten Fische an festen Gegenständen scheuern.

Beobachtet man eine abgeschnittene Flosse unter dem Mikroskop, so sieht man die Parasiten in ihren Höhlungen innerhalb des Epithels sehr lebhaft rotieren. Man gewinnt den Eindruck, daß sie sich herauszuarbeiten versuchen. Ist das Epithel gesprengt, so zwängen sie sich unter merkwürdigen Formveränderungen durch die entstandene Lücke und beginnen zu schwimmen. Es dauert oft mehrere Minuten, bis sie die ursprüngliche rundliche oder etwas längliche Form wiedergewonnen haben. Sie schwimmen, wie man mit bloßem Auge sehen kann, mit ziemlicher Geschwindigkeit herum. Hier und dort setzen sie sich fest, schwimmen aufs neue fort usw., bis sie sich endlich zur Encystierung an dem Boden des Gefäßes, an Pflanzenteilen usw. anheften. Bewegt man das Gefäß jetzt auch nur ein wenig, so lösen sie sich wieder los.

Die Encystierung erfolgt bald früher, bald später, mitunter erst nach Verlauf einiger Stunden. Die sehr späten Encystierungen (6 Stunden und mehr nach der Abwanderung vom Wirt) deuten auf pathologische Verhältnisse; denn in solchen Fällen starben die Tiere, nachdem wenige Teilungen stattgefunden hatten. Mir schien,

daß die Encystierung rascher erfolge, wenn ich es vermied, die Ichthyophthirien mit einer Pipette zu berühren. Deshalb brachte ich sie später nicht mehr mit einer Pipette in die Kulturschalen (Uhrschälchen usw.), sondern ich zerschnitt den sterbenden Fisch und legte die Teile samt den darauf befindlichen Parasiten in das Gefäß, in welchem ich die Entwicklung der Cyste verfolgen wollte.

Bei der Encystierung gingen die Cilien des Infusors nicht verloren. Auch die fixierten und gefärbten Präparate beweisen, daß die Cilien nicht abgeworfen werden. Roth machte die gleiche Beobachtung, Clevisch aber schreibt, daß das Tier „auf den Boden des Wassers fällt, die Wimperhaare verliert und eine gallertartige Hülle absondert". Zacharias äußert sich auch in diesem Sinne.

Die erste Zweiteilung tritt in der Regel innerhalb $^1/_2$ oder doch 1 Stunde nach der Encystierung ein. Wann und wie die folgenden Teilungen vor sich gehen, haben verschiedene Autoren (Fouquet, Kerbert, Stiles, Roth) eingehend behandelt. Ich habe darüber nichts Neues zu berichten; nur möchte ich gegenüber Roth, der es für normal erklärt, wenn sich die Teilstücke in der Cyste nicht bewegen, betonen, daß ich nie absolut unbewegliche gesunde Sprößlinge in der Cyste beobachtete. Zwar schien es oft, als ob die Tochterstücke ganz bewegungslos seien, bei Anwendung stärkerer Systeme (Leitz Oc. 3, Obj. 6) erkannte man aber ein Rotieren des Tieres und Flimmern der Cilien.

Die Zahl der Sprößlinge in der Cyste betrug nach Beendigung der Teilungen in den meisten Fällen 256. Gelegentlich kamen auch ca. 512 Teilungen vor. Sicher zählen konnte ich derartige Mengen am lebenden Material nicht. Erst die fixierten Präparate gaben zu den Schätzungen die nötigen Belege. Da oft ein Teilstück eines ziemlich frühen Stadiums sich nicht weiterteilt oder erst später als die Schwesterstücke die Teilung fortsetzt, kommen auch andere Zahlen zustande als diejenigen, welche sich bei andauernd gleichmäßiger Teilung ergeben würden.

Das Ausschlüpfen der Sprößlinge erfolgte in meinen Kulturen bei ca. 17° C durchschnittlich 20 Stunden nach Abwanderung des Parasiten vom Wirt. Es kam vor, daß Cysten schon in der 13. und andere erst in der 27. Stunde zersprengt wurden. Im erstgenannten Falle waren nur ca. 128 Sprößlinge gebildet worden, im letzten hatte eine Temperaturerniedrigung auf 13,5–14° C die Entwicklung verzögert.

Es kommt vor, daß die abgewanderten Parasiten, ohne sich zu encystieren, mit dem Teilungsprozeß beginnen. Stiles, Nereshеimer

und Roth berichten davon. Erst nachdem wenige oder gar nur eine Teilung stattgefunden haben, tritt die Encystierung ein. Die Teilstücke encystieren sich entweder einzeln oder zu mehreren. Die folgenden Teilungen in der Cyste bieten nichts Außergewöhnliches. Ich beobachtete auch, daß die Teilungen bis zum 16er Stadium fortgesetzt wurden und dann die Tochterstücke starben.

Anfangs schien es mir, daß derartige vorläufige freie Teilungen häufiger bei großen als bei kleinen Individuen eintreten; ich untersuchte daher die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen Größe des Tieres und Teilungsmodus bestehe. Die Antwort fiel negativ aus. Dagegen ließ sich feststellen, daß die freien Teilungen in den Kulturen, welche ein schlechtes Endergebnis hatten (viele pathologische Bildungen), besonders häufig auftraten. Daher schien es mir einer Untersuchung wert, ob ungünstige Bedingungen für die Encystierung Anlaß zur freien Teilung sein können. Ich stellte einige Versuche an, indem ich die Kulturschälchen mit dem *Ichthyophthirius* öfters bewegte. In der Mehrzahl der Fälle vertrugen dies die Parasiten überhaupt nicht und gingen, ohne mit der Teilung begonnen zu haben, ein. Bei den übrigen Versuchen erfolgten freie Teilungen nie aber Encystierungen. Es scheinen also in der Tat die freien Teilungen einzutreten, wenn die Verhältnisse für eine Encystierung ungünstig sind. Daß freie Teilungen und Encystierungen in einer Kultur nebeneinander vorkommen und dieselben Tiere, welche sich erst frei teilen, sich später encystieren, weist darauf hin, daß die ungünstigen Einflüsse nicht alle Tiere einer Kultur gleichmäßig zu treffen und nicht dauernd wirksam zu sein brauchen.

Einen merkwürdigen Teilungsvorgang, eine Zerfallsteilung, beschreibt Neresheimer. Die nach der Abwanderung vom Fisch träge herumschwimmenden Ichthyophthirien zerfielen, ohne sich encystiert zu haben, spontan in eine „sehr wechselnde Zahl von Sprößlingen“, besonders häufig in 5 Stücke, „wobei die Teilstücke etwa wie die Teile einer Orange voneinander geschieden wurden“. Der Kern nahm bei Beginn der Teilung ganz unregelmäßige Formen an. Auch in Cysten fand der Autor „multiple Teilungen“, die gleichfalls von bizarren Kerndeformationen begleitet waren. Als charakteristisch für die „multiplikative Fortpflanzung“ bezeichnet Neresheimer ferner „das Fehlen jeder micronucleusartigen Differenzierung“.

Roth konnte keine Zerfallsteilungen finden, wohl aber sah er manchmal bei absterbenden Ichthyophthirien Verkrüppelungen, die Plasma und Kern in Mitleidenschaft zogen. In kurzer Zeit folgte ein Zerfall des Tieres. Roth nimmt an, daß Neresheimer patho-

logische Tiere fixiert und sich durch die Präparate habe täuschen lassen.

Auch mir gelang es nicht, eine Zerfallsteilung zu Gesicht zu bekommen. Jedoch fand ich unter meinen Präparaten Bilder, welche an die von Neresheimer beschriebene Zerfallsteilung innerhalb einer Cyste (vgl. Fig. 13 bei N.) erinnern. Es handelt sich in diesem Falle zweifellos um pathologische Cysten. Ein Teil war schon etwas zerstört, offenbar schon vor der Fixierung abgestorben. Ich hatte sie alle an der tiefsten Stelle einer runden Kulturschale mit unebenem Boden, die ich aushilfsweise benutzte, gesammelt. Ob nun auch Neresheimer pathologische Erscheinungen vor sich gehabt hat, bleibe dahingestellt. Unwahrscheinlich ist es nicht.

II. Teil.

Untersuchungen am konservierten Material.

Die Entstehung des Nebenkernes.

Wie ich in der allgemeinen Einleitung ausgeführt habe, findet sich in dem erwachsenen, schmarotzenden *Ichthyophthirius* kein Nebenkern, wohl aber in dem der Vermehrungscyste entschlüpften jungen Parasiten. In dem frisch encystierten Infusor und den ersten Teilungsstadien läßt sich ebenfalls kein Micronucleus wahrnehmen, dagegen wohl in den späteren.

Die oben wiedergegebene Anschauung der älteren Autoren (Bütschli, Doflein, Hofer), daß der Micronucleus wohl stets vorhanden, aber nicht in allen Stadien wahrnehmbar sei, weil er von Stoffwechselprodukten verdeckt werden könne, wurde von Clevisch widerlegt. Der Autor wies nach, daß der Micronucleus der Sprößlinge im Laufe der innerhalb der Cyste stattfindenden Teilungsvorgänge entsteht.

Die ersten Teilungen verdienen kein besonderes Interesse. Wie Clevisch zeigte, leitet der Hauptkern die Teilung ein, indem er seine Hufeisen- oder Wurstform verliert und sich in die Länge streckt. Es folgt die Durchschnürung des Kernes, sie wird von der des Plasmas begleitet. Auf diese Weise entstehen 2, 4 Teilstücke usw.

Interessanter sind die späteren Stadien, sie leiten zur Frage nach der Entstehung des Nebenkernes über. Im 8- und 16teiligen Stadium nahm Clevisch chromatische Ansammlungen innerhalb des Hauptkerns in Form von undeutlichen Streifchen wahr, im 32teiligen beobachtete er einen deutlichen chromatischen Streifen in der Äquatorialgegend. Bei der Teilung vom 32er zum 64er Stadium soll nach Clevisch jedem Tochterkern die Hälfte dieser chromatischen Substanz zugeteilt werden. Nach der Teilung beobachte man „peripher gelegen dieses Chromatinklümpchen an den einander zugewandten Enden der beiden Kerne“. Bei der Abrundung eliminiere der Kern diese Chromatimenge in Form eines kleinen Brockens in das Plasma.

Das Schicksal dieses abgeschnürten Körperchens beschreibt Clevisch ungefähr folgendermaßen: Der Brocken nimmt runde Gestalt an; in seinem Innern zeigt sich das Chromatin regellos verteilt. Später erscheint ein achromatisches Netzwerk, auf dem sich die chromatischen Körnchen anlagern. Aus diesem „Knäuelstadium“ entsteht eine Spindel, indem der Nebenkern sich streckt und die achromatischen Fasern sich längsordnen. Die Chromatinkörnchen liegen zunächst noch in ungleichmäßigen Abständen auf den Spindelfasern, allmählich wandern sie zum Äquator und bilden die Äquatorialplatte. Es hat sich also eine typische Nebenkernspindel entwickelt.

Von den Angaben Clevisch's weichen diejenigen Neresheimer's erheblich ab. Chromatische Ansammlungen innerhalb des Hauptkernes beobachtete Neresheimer nicht. Wohl aber nahm auch er Abschnürungen aus dem Hauptkern wahr. Diese erfolgten nicht unmittelbar im Anschluß an eine Teilung, sondern im Ruhezustand des Hauptkernes, zwischen zwei Teilungen. Neresheimer gibt an: „Wenn in der Cyste etwa zwei oder drei Dutzend Teilstücke von etwa je 100 μ Durchmesser entstanden sind,“ tritt ein stark färbbares Chromatinklümpchen aus dem Macronucleus heraus. Hat sich das Klümpchen weiter vom Macronucleus entfernt, so sieht man zunächst noch eine kometenschweifartige Verbindung zwischen beiden. Aus der gekrümmten Form des Verbindungsstranges und dem Umstand, daß sich dem Autor das Bild nur selten, „dann aber in vielen Individuen derselben Cyste zugleich“ zeigte, gewann er den Eindruck, daß der Chromatinbrocken wie ein Projektil aus dem Hauptkern herausgeschleudert werde. Über die Umbildung dieses Körpers zum Micronucleus macht Neresheimer keine näheren Angaben, sondern teilt nur mit, daß sich die folgenden Teilungen auch auf den Nebenkern erstrecken.

Eine wesentliche Verschiedenheit zwischen der Darstellung

Clevisch's und der Neresheimer's liegt darin, daß jener Autor annimmt, die Abschnürung der Anlage zum Nebenkern erfolge unmittelbar im Anschluß an eine Teilung und an einer präformierten Stelle, dieser aber gibt an, daß der im Ruhestadium befindliche Macronucleus die Abschnürung an einer nicht vorher gekennzeichneten Stelle vollziehe. Ein zweiter Unterschied betrifft den Zeitpunk der Abschnürung, die Frage, in welchem Teilungsstadium die Nebenkernanlage erscheint.

Meine Untersuchungen führten im allgemeinen zu einer Bestätigung der Neresheimer'schen Befunde. Wie dieser Autor sah ich nicht chromatische Ansammlungen in Form von Streifen innerhalb des Hauptkernes, dagegen fand ich, zwar nur ganz vereinzelt, Bilder, die auf eine Abschnürung im Anschluß an eine Teilung schließen ließen. In diesen Fällen zeigten sich zwei soeben aus einer Teilung hervorgegangene Hauptkerne noch an den einander zugewendeten Seiten spitz ausgezogen. Auf diesen Spitzen lag je ein wohlabgegrenztes dunkles Klümpchen. Über das Schicksal solcher Körperchen kann ich keine Aufschlüsse geben.

Die große Mehrzahl meiner Präparate der hier in Betracht kommenden Stadien gaben Bilder, welche der Neresheimer'schen Darstellung des Abschnürungsvorganges im wesentlichen entsprechen. Mein reichliches Material ermöglicht es, die Angaben des genannten Autors um manche Einzelheiten zu ergänzen.

In Macronucleen, welche sich im Ruhestadium befanden, sah ich Chromatinanhäufungen in Form eines peripher gelagerten, sehr dunkel gefärbten Körperchens (Fig. 1). In den verschiedenen Sprößlingen zeigte sich der Kern durch diese Ansammlung bald schwächer, bald stärker vorgewölbt. In anderen Fällen befand sich das dunkle Körperchen schon vollständig außerhalb des Macronucleus, mit diesem aber durch eine breite Brücke verbunden (Fig. 2). Wenn der abgeschnürte Körper schon weiter vom Hauptkern entfernt ist, besteht die Verbindung zwischen beiden aus einem hellgefärbten, streifig granulierten Strang (Fig. 3). Manchmal, aber durchaus nicht immer, wie Neresheimer angibt, ist der Verbindungsstrang gekrümmt. Je weiter das Abschnürungsprodukt vom Hauptkern entfernt ist, desto dünner zeigt sich der Verbindungsstrang. Bilder, die nur noch kaum vom Plasma unterscheidbare Reste des Stranges erkennen lassen, gestatten den Schluß, daß er, wenigstens zum größten Teil, vom Plasma resorbiert wird. Das am Hauptkern anhaftende Ende wird wohl in diesen zurückgezogen (Fig. 4). Das Endresultat des Vorganges ist ein dunkelgefärbtes rundliches, isoliert im Plasma

liegendes Körperchen. Der Hauptkern hat inzwischen wieder eine gleichmäßige runde oder etwas längliche Form angenommen (Fig. 5).

Aus der Tatsache, daß ich die verschiedensten Stadien des Abschnürungsvorganges fixiert habe, scheint mir hervorzugehen, daß es sich nicht, wie Neresheimer annahm, um ein „projektilartiges“ Herausschleudern eines Chromatinbrockens handelt, sondern um ein allmähliches Abwandern des Körperchens vom Hauptkern. Daß der Weg, den das Abschnürungsprodukt einschlägt, oft gekrümmt ist, wie der Verbindungsstrang anzeigt, muß man vielleicht auf Dichtigkeitsverhältnisse im Plasma zurückführen.

Bezüglich des Teilungsstadiums, in welchem die Abschnürung stattfindet, weichen Clevisch's und Neresheimer's Darstellungen insofern voneinander ab, als jener die Eliminierung des Chromatinklümpchens in einer Cyste mit 64 Teilstücken erfolgen sah, dieser aber zählte nur 2—3 Dutzend Sprößlinge.

Meine Befunde ergeben, daß der Kern in den verschiedensten Stadien mit Ausnahme derjenigen, welche weniger als 4 Teilstücke enthalten, Abschnürungen vollzieht. Er ist sogar, wie wir später sehen werden, imstande, die Abschnürung zu wiederholen. Hier sei nur die Frage erwogen, in welchem Stadium die erste Abschnürung stattfindet. Ich konnte sie nur selten in Cysten mit 4, schon häufiger in solchen mit 8 Sprößlingen, am häufigsten aber in denen mit 16 und 32 Teilstücken konstatieren. In der Regel waren die erstgenannten sehr klein, die folgenden größer, die letztgenannten Cysten am größten. Infolgedessen konnte es vorkommen, daß ein Teilstück einer 4teiligen kleinen Cyste ungefähr die gleiche Größe wie dasjenige einer größeren 16teiligen Cyste hatte.

Wir wollen uns ins Gedächtnis zurückrufen, daß das Ausgangsstadium, d. h. das ungeteilte encystierte Individuum verschieden groß sein kann, da von den sterbenden Wirtstieren Parasiten sehr verschiedener Dimensionen zur Encystierung abwandern.

Die Verhältnisse legen die Vermutung nahe, daß wir die beschriebenen Abschnürungsprozesse in Teilstücken einer bestimmten Größe zu suchen hätten, die, je nach den Massen des Ausgangsindividuums, nach einer geringeren oder größeren Anzahl von Teilungen erreicht wird. Im allgemeinen trifft das Gesagte in der Tat zu, von geringeren Differenzen abgesehen. In meinem Material fand ich die erste Abschnürung vorwiegend in Teilstücken von 80—100 μ im Durchmesser.

Die Umbildung des Abschnürungsproduktes zum Micronucleus habe ich stufenweise an meinem Material verfolgen können. Wenn

noch die Spuren der einstigen Verbindung zwischen Haupt- und Nebenkern zu sehen sind, zeigt sich der Micronucleus ebenso intensiv oder noch etwas dunkler gefärbt als der Macronucleus. Infolgedessen hebt er sich innerhalb des Plasmas stark hervor. Auch später noch, wenn der Micronucleus vollständig isoliert daliegt, von dem Verbindungsstrang zum Macronucleus also nichts mehr wahrzunehmen ist (Fig. 5), findet man den Nebenkern häufig gut gefärbt. Die Chromatinkörnchen liegen in ihm regellos verteilt. Um ihn herum sieht man sehr oft einen hellen vacuolenähnlichen Raum (Fig. 6). Es ist vielleicht ein bei der Fixierung hervorgerufener Schrumpfraum.

Auf anderen Bildern findet man Micronucleen, welche die Farbe in viel geringerem Maße als der Hauptkern angenommen haben; manche erscheinen sogar dermaßen schwach gefärbt, daß man sie sehr leicht im Plasma übersieht und sie nur schwierig finden würde, wenn sie nicht durch die helle umrandende Zone etwas von dem Plasma getrennt wären (Fig. 7). In ihrem Innern sieht man ein feines, ein Netzwerk darstellendes Liningerüst. An den Kreuzungspunkten der Fäden haben sich Chromatinkörnchen abgelagert. Die Form so strukturierter Micronucleen ist oft nicht mehr rund, sondern etwas länglich (Fig. 8).

In noch mehr gestreckten Nebenkernen, die fast schon Spindelform erreicht haben, sehen wir wieder eine andere Struktur. Statt des regelmäßigen Netzwerkes sieht man ein Gewirr von Lininfäden, die zum großen Teil von einem Pol des Kernes zum anderen verlaufen. Auf den Fäden sieht man Chromatinkörnchen liegen (Fig. 9).

An dieses in der äußeren Form schon stark an eine Spindel erinnernde Stadium dürfen wir wohl die Ausgestaltung der typischen Spindel schließen. Wir finden Bilder, die uns die Achromatinfäden mehr oder minder geordnet nebeneinanderliegend zeigen. Die Chromatinkörnchen sieht man auf den Lininfäden aufgereiht liegen, so daß sie bei schwächerer Vergrößerung als einige dunkle Streifchen hervortreten. Zwischen diesen bestehen Verbindungen (Fig. 10), oder sie erscheinen uns (bei geringer Vergrößerung vgl. Abbildg.) in schöner Ordnung, Streifchen neben Streifchen (Fig. 11). Die Chromatinkörnchen bedecken eine längere oder kürzere Strecke der Lininfäden. Häufig sieht man in diesen Stadien einen oder beide Pole der Spindel aufgehellt. Schließlich haben sich die Chromatinkörnchen nach dem Äquator hin konzentriert und repräsentieren sich als chromosomenähnliche Körperchen. Die Zahl der Chromosomen ließ sich nicht mit absoluter Sicherheit feststellen, allem Anscheine nach sind es sechs. Einigermaßen klare Präparate sind in

Fig. 11 u. 12 wiedergegeben. Die letzte zeigt ein wohl noch nicht ganz fertig ausgebildetes Äquatorialplattenstadium in starker Vergrößerung. Die achromatischen Fäden sind untereinander verbunden und verlaufen streckenweise zu zweien dicht nebeneinander. Einige Chromosomen scheinen von zwei Fäden gehalten zu werden.

Von dem weiteren Verhalten des Micronucleus gab Clevisch eine kurze Darstellung. Er fand Bilder, welche die beiden Chromosomentochterplatten in größerem oder geringerem Abstande von den Polspindeln zeigten, und andere, die zwei eben aus der Teilung hervorgegangene, noch durch einen dünnen Faden in Verbindung stehende Micronucleen aufwiesen. Während der Teilung des Micronucleus bereitet sich der Hauptkern zur Durchschnürung vor. Clevisch konstatierte, daß die neuen Nebenkerne schon fertig ausgebildet seien, wenn der Macronucleus erst die Hantelform erreicht hat.

Auf Grund meines Materials lassen sich Clevisch's Befunde bestätigen und erweitern. Ich erhielt Bilder vieler Stufen der Nebenkernmitose, die klarsten in Cysten, bei denen die große Zahl und geringe Größe der Teilstücke darauf hinwiesen, daß schon eine beträchtliche Anzahl von Teilungen stattgefunden habe. Da die Micronucleusteilungen dieser späteren Stadien, soweit sich aus meinen Präparaten schließen läßt, nicht anders als die früheren verlaufen, können wir sie der Darstellung aller Nebenkernteilungen (mit Ausschluß der Reifeteilungen) zugrunde legen (vgl. Größe Fig. 11 u. 16).

Fig. 16 gibt ein Äquatorialplattenstadium des Micronucleus in einem kleineren Sprößling wieder. Die Chromosomen liegen so dicht aneinander, daß man keine deutlichen Abgrenzungen wahrnehmen kann. In welcher Weise, ob durch Längs- oder Querspaltung, sich die Chromosomen teilen, ließ sich nicht feststellen. Die Abwanderung der Tochterplatten zu den Polen vollzieht sich in der von anderen Infusorien her bekannten Weise (Fig. 17). Haben sich die Tochterplatten den Polen genähert, so hellt sich die äquatoriale Partie der Spindel auf und schnürt sich ein. Die folgenden Stadien bieten gleichfalls bekannte Erscheinungen (Fig. 18 u. 19).

Inzwischen ist auch der Macronucleus zur Teilung geschritten. Die ersten Anzeichen der Einschnürung machen sich meist bemerkbar, wenn der Nebenkern gerade die Äquatorialplatte gebildet hat, manchmal sogar noch früher; es kommt aber auch vor, daß der Hauptkern sich erst in die Länge gestreckt und noch nicht eingeschnürt hat, wenn der Micronucleus schon Chromosomentochterplatten zeigt (Fig. 17). Im allgemeinen ergibt sich, daß Macronucleus und Plasma dem Micronucleus bald etwas früher, bald etwas später in der Teilung folgen.

Die eben aus der Teilung hervorgegangenen, noch an der einen Seite länglich ausgezogenen, daher birnförmigen Micronucleen zeigen eine undeutliche streifige Struktur (Fig. 19). Haben sie sich abgerundet, so sieht man im Innern das Chromatin in Form unregelmäßiger Streifen oder gekrümmter Fäden (Fig. 20). Dieser Zustand scheint ein Ruhestadium darzustellen.

Über die Umbildungen eines Micronucleus, der aus einer Teilung hervorgegangen ist, zur nächsten Teilungsspindel gewann ich durch einen glücklichen Zufall Klarheit. Es fanden sich in den verschiedenen Sprößlingen der gleichen Cyste erstens die eben beschriebenen rundlichen Micronucleen, zweitens etwas längliche mit undeutlichen Streifen (Fig. 13), drittens solche mit deutlichen Längsstreifen und viertens auch einige, die dem Äquatorialplattenstadium nahe standen (Fig. 14 u. 15).

Um die Darstellung klar zu gestalten, habe ich im vorstehenden eine Tatsache, welche die Nebenkernverhältnisse bei *Ichthyophthirius* außerordentlich kompliziert, außer Betracht gelassen; dies ist die von den bisherigen Autoren übersehene Wiederholung der Abschnürungen vom Macronucleus.

Man trifft gar nicht selten neben einem Abschnürungsprodukt, das schon auf dem Wege zur Micronucleusbildung steht oder bereits eine typische Spindel darstellt, den Hauptkern bei einer neuen Abschnürung an, oder man findet die zweite Abschnürung sogar beendet (Fig. 11). Mannigfaltige Bilder ergeben, daß der ersten Abschnürung eine zweite in geringerem oder größerem Abstande folgen kann.

Es ergibt sich hiermit die sehr schwierige Frage, welchen Charakter die zweite Abschnürung hat. Nur in wenigen Fällen kann man mit Bestimmtheit erkennen, ob man zwei aus einer Teilung eines einzigen hervorgegangene Micronucleen oder zwei Abschnürungsprodukte vor sich hat. Zeigt der Hauptkern noch Spuren einer Abschnürung, so ist die Entscheidung leicht, auch wenn die beiden micronucleusähnlichen Gebilde sehr verschieden sind, der eine z. B. dunkel gefärbt und ziemlich kompakt, der andere dagegen hell und fein strukturiert ist (Fig. 8), oder wenn der eine das Chromatin diffus, der andere es in Streifen angeordnet zeigt (Fig. 23), ist jeder Zweifel ausgeschlossen. Derartige Bilder lassen auch erkennen, daß der zweite Abschnürungskörper wie der erste sich oft in einem vacuolenartigen Raum befindet.

Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß er denselben Entwicklungsgang wie der erste Abschnürungskörper durchmachen kann,

so daß in einem Sprößling zwei Micronucleen entstünden. Bei der nächsten Teilung des Sprößlings könnte vielleicht je einer der Micronucleen in eine der Hälften übergeführt werden und dort die Funktion eines echten Nebenkernes übernehmen. Mit dieser Auffassung ließen sich Bilder, wie in Fig. 21 u. 22 dargestellt, gut vereinigen. Dort sehen wir, innerhalb eines in der Teilung begriffenen Sprößlings, zwei nicht ganz gleichartige Micronucleen.

Aber auch mit der zweiten Abschnürung erlischt die Fähigkeit des Kernes, Portionen seiner Substanz abzuschnüren, nicht. Fig. 23 lehrt, daß drei Abschnürungskörper entstehen können, bevor sich der Sprößling wieder teilt. Die Produkte einer solchen Abschnürung ließen sich in vielen Fällen nachweisen, aber stets repräsentierten sie sich als Körper, die wie der Macronucleus oder noch dunkler gefärbt sind. Nie fand ich sie in einem der Umbildungsstadien der Spindel. Dagegen treten sie oft in ungleichmäßigen Formen auf, die den Eindruck degenerierender Körper erwecken. Ich glaube deshalb schließen zu dürfen, daß eine dritte Abschnürung in der Regel keinen Micronucleus ergibt.

Mehr als drei Abschnürungen in einem Sprößling habe ich nicht gefunden. Es scheint also der Macronucleus, bevor er wieder zur Teilung schreitet, nicht mehr neue Körperchen abzustoßen. Dagegen ließ sich feststellen, daß der Hauptkern nicht nur in den besprochenen größeren Sprößlingen, sondern auch in bedeutend kleineren Stadien, also nach Verlauf weiterer Teilungen, Abschnürungen vollzieht. Die Größe dieser Abschnürungsprodukte ist sehr verschieden. Sie haben mitunter den zwei- und dreifachen Umfang des Nebenkernes, sind aber manchmal kaum halb so groß wie dieser. Bilder, die auf eine Weiterentwicklung solcher Körper schließen lassen, fand ich nirgends, dagegen zeigten sich häufig ganz unregelmäßig geformte, kompakte, winzige Bröckchen, die sehr wohl als degenerierte Abschnürungskörper gedeutet werden können (Fig. 15—17). Merkwürdig sind auch Fälle, wo zu gleicher Zeit zwei Körperchen abgeschnürt werden (Fig. 24).

Wir haben also gesehen, daß sich aus einer frühzeitigen Abschnürung des Hauptkernes ein Micronucleus entwickelt, der bei den späteren Teilungen in Tätigkeit tritt. Der Hauptkern schnürt außerdem in sehr verschiedenen Stadien Körperchen ab, die allem Anschein nach degenerieren. Sie sind vielleicht als rudimentäre Nebenkerne zu deuten.

Reifung und Befruchtung.

Die geschlechtlichen Vorgänge bei *Ichthyophthirius* sind von Clevisch nicht beschrieben worden. Der Autor nahm an, daß nach einer Teilung, die vom 128er zum 256er Stadium hinüberführt, die Entwicklung innerhalb der Cyste ihr Ende erreicht habe. Der Hauptkern bilde keine Hufeisenform mehr, sondern runde sich nach der letzten Teilung ab, strecke sich in die Länge und nehme „normale Form“ an. Der Nebenkern „ordnet“, wie Clevisch sagt, „seine Substanzen und nimmt ovale Gestalt an, jene Form, die für die jungen Individuen bezeichnend ist“. Der Nebenkern habe offenbar eine bestimmte Lage; Clevisch fand ihn in den meisten Fällen „nahe der Peripherie“.

Dieser wohl auf Grund einer sehr geringen Anzahl von Präparaten aufgebauten Darstellung widersprechen Neresheimer's Angaben durchaus. Sie beweisen, daß eine Reihe sehr wichtiger Stadien von Clevisch unbeobachtet blieb.

Neresheimer kam zu dem Schluß, daß durch fortgesetzte Teilungen unter Anteilnahme des Micronucleus in der Cyste kuglige Individuen von etwa 40 μ im Durchmesser entstünden. In diesen Teilstücken gehe der Nebenkern neuerdings in Spindelform über; durch zweimalige Teilung würden 4 Micronucleen gebildet; diese träten zunächst in ein Ruhestadium ein. Allmählich verfielen 3 davon der Degeneration, der vierte bilde von neuem eine Spindel und ergäbe 2 Geschlechtskerne. Neresheimer glaubt also, einen Reifungsprozeß, wie er in der Regel bei anderen Infusorien zu finden ist, festgestellt zu haben. Nach den Reifungsprozessen verlassen, wie Neresheimer annimmt, die Sprößlinge die Cyste. Der Autor fand ausgeschwärmte Tiere mit 1 und solche mit 2 gereiften Geschlechtskernen.

Anfangs zweifelte Neresheimer nicht daran, daß unter den ausgeschlüpften Individuen Conjugationen erfolgen würden. Aber er fand in den Uhrschälchen, in denen er das Ausschlüpfen der Sprößlinge verschiedener Cysten beobachtete, nie Befruchtungsvorgänge. Ebenso erfolglos blieb der Versuch, auf kleinen Fischen oder Flossenteilen eine Conjugation neu eingewanderter Schmarotzer zu verfolgen. Schließlich suchte Neresheimer nach einer Conjugation innerhalb der Cyste, aber wiederum vergebens. Dagegen fand er in den jungen Parasiten Vorgänge, die er als autogame Kernverschmelzungen deutete. Er konstatierte, daß in den jungen Schmarotzern, die sich erst vor kurzem auf den Fischen angesiedelt hatten,

1 Haupt- und 2 Nebenkerne vorhanden seien. Die Micronucleen lägen auf beiden Seiten des Macronucleus oder aber auf der gleichen Seite, oft in geringer Entfernung voneinander. Schließlich würden sie verschmelzen, ohne dabei in Spindelform überzugehen.

Es blieb vor allem die Frage offen, ob dem Autor vielleicht doch eine Conjugation entgangen sei. Da aber beim Experiment die günstigsten Bedingungen für eine Conjugation vorlagen und ein solcher Vorgang trotzdem nicht eintrat, glaubte Neresheimer auf eine autogame Befruchtung schließen zu dürfen.

Meine Befunde haben die Richtigkeit dieses Schlusses erwiesen. Ich erhielt Bilder, die es außer Zweifel stellen, daß bei *Ichthyophthirius* eine Selbstbefruchtung eintritt. Dagegen kann ich Neresheimer's Darstellung der Reifungsvorgänge nicht bestätigen. Leider ist es auch mir nicht gelungen, vollständige Klarheit über diese Vorgänge zu gewinnen. Die Verhältnisse sind bedeutend komplizierter, als Neresheimer annahm, dadurch, daß der Macronucleus auch in späteren Stadien Abschnürungen vollzieht. Dieser Umstand bringt die Gefahr mit sich, daß wir abgeschnürte micronucleusähnliche Körper mit echten Nebenkernen verwechseln. Neresheimer scheint sich, nach seinen Abbildungen zu urteilen, in der Tat getäuscht zu haben. In seinen Fig. 17a—e (1908) scheinen mir nur jeweils die als Spindeln und als große hellgefärbte Nebenkerne wiedergegebenen Körper für Micronucleen erklärt werden zu können.

Für die Beurteilung der komplizierten Verhältnisse wurden am wichtigsten jene Cysten, welche in den einzelnen Teilstücken verschiedene Micronucleusverhältnisse aufweisen, so vor allem eine Cyste, deren Sprößlinge teils 1, teils 2 und teils 4 Nebenkerne besitzen. In denjenigen Teilstücken der Cyste, die nur 1 Micronucleus aufweisen, zeigt dieser Spindelstruktur, und zwar sind verschiedene Stadien vertreten. In einigen Fällen ist das Äquatorialplattenstadium noch nicht erreicht, in anderen lassen sich die Chromosomentochterplatten erkennen (Fig. 25). Die Sprößlinge mit 2 Micronucleen repräsentieren ebenfalls verschiedene Stadien, z. B. 2 Nebenkerne, die noch Reste ihres früheren Verbindungsstranges erkennen lassen, also eben erst aus einer Teilung hervorgegangen sind (Fig. 27), oder 2 Micronucleen, deren langgestreckte Spindelform die beginnende, zu 4 Nebenkernen führende Mitose verrät (Fig. 29). In dem in Fig. 30 abgebildeten Sprößling sind bereits 4 Nebenkerne gebildet. Wir sehen 2 längliche, 1 annähernd und 1 vollständig runden Micronucleus. Die 2 ersten sind gestreift, die beiden anderen haben eine

undeutliche Struktur, von der sich gekrümmte chromatische Fäden hervorheben.

Im Zusammenhang mit den Verhältnissen in der eben beschriebenen Cyste wollen wir alle die unter meinem Material häufigen Fälle beurteilen, wo sich innerhalb eines Sprößlings neben einem im Ruhestadium befindlichen Hauptkern der Nebenkern in einem weit vorgeschrittenen Teilungsstadium befindet (Fig. 25), oder wo eben 2 Micronucleen aus einer Teilung hervorgegangen sind (Fig. 26), und endlich, wo sich 2 fertig ausgebildete Nebenkerne zeigen (Fig. 28). Für diese Fälle anzunehmen, daß es sich um die im vorigen Kapitel beschriebenen Teilungen (von Mi- und Macronucleus) handele, bei denen sich der Hauptkern ausnahmsweise spät noch durchschnüren wird, scheint mir nicht begründet. Vielmehr scheinen mir alle diese Fälle so gedeutet werden zu müssen, daß sie den Beginn jener Entwicklung darstellen, die zur Bildung von 4 Nebenkernen führt, wie wir sie in der oben beschriebenen Cyste gefunden haben.

Schwieriger zu beurteilen sind die Verhältnisse in einer weiteren Cyste mit Sprößlingen verschiedener Stadien. Einige der Teilstücke enthalten 2 langgestreckte Nebenkernspindeln (Fig. 31), andere sind durch den Besitz von 4 Micronucleen ausgezeichnet. In einem dieser Fälle liegen je 2 von den 4 derart vereint, daß ihre Spitzen ineinander übergehen (Fig. 32), als wären sie eben aus einer Teilung hervorgegangen; in einigen anderen sind alle 4 vollkommen getrennt (Fig. 33). In den weitaus meisten Teilstücken der Cysten zeigen sich nur 2 Kerne. Sie sind etwas langgestreckt (kurze Spindeln) oder rund. Auffälligerweise liegen die beiden Micronucleen in fast allen Sprößlingen nahe beieinander, so daß sie sich vielfach gegenseitig berühren (Fig. 35—37). Schon auf den ersten Blick erweckt die paarweise Aneinanderlagerung den Eindruck, daß die 2 Micronucleen Geschlechtskerne sind, welche kurz vor der Verschmelzung stehen. Diese Annahme finden wir dadurch bestätigt, daß in einigen Sprößlingen der Cyste nur 1 Micronucleus zu finden ist und dieser durch seine Form zeigt, daß er aus der Verschmelzung von 2 hervorgegangen ist (Fig. 38).

Es liegt nahe, die Verhältnisse so zu deuten: die Nebenkerne haben 2 Teilungen erfahren; von den 4 Teilprodukten sind 2 miteinander zum Syncaryon verschmolzen; die 2 übrigen wären dann den Richtungskörperchen zu vergleichen.

Hier ist eine Schwierigkeit gegeben: In dem bei Infusorien gewöhnlichen Verlauf der Reifungsteilungen gehen von den 4 Teilungsprodukten des Nebenkernes 3 zugrunde. Man findet sie einige Zeit

noch als starkgefärbte, allmählich der Resorption anheimfallende Körperchen. Neresheimer glaubte solche degenerierenden Richtungskörperchen gefunden zu haben. Allein er hat, wie ich schon bemerkte, außer acht gelassen, daß der Hauptkern immer wieder Abschnürungen vollzieht, und scheint in Reduktion befindliche Abschnürungsprodukte für degenerierende Micronucleen gehalten zu haben.

Ich habe mich bemüht, Gebilde zu finden, die sich durch ihre Form mit Sicherheit als degenerierende Micronucleen erweisen. Leider gelang es mir nur, in einem einzigen Teilstück der besprochenen Cyste ein günstiges Bild zu finden (Fig. 34). In diesem Falle sind von 4 Micronucleen eines Sprößlings 2 so strukturiert, wie es für den normalen Nebenkern bei *Ichthyophthirius* typisch ist, sie sind heller als das umgebende Plasma und gestreift. Die beiden anderen dagegen sind wesentlich dunkler als das Plasma gefärbt und kompakt. Diese scheinen mir als degenerierende Micronucleen, Reduktionskörper, gedeutet werden zu müssen. Wir wollen uns an dieser Stelle auch der 4 Micronuccleen erinnern, welche sich in der zuvor besprochenen Cyste befanden (Fig. 30). Dort waren 2 gestreift, während die beiden übrigen eine undeutliche Struktur hatten. Vielleicht standen diese im Moment der Fixierung im ersten Stadium der Degeneration.

Die auffällige Tatsache, daß in den vielen Teilstücken in der Cyste, welche 2 nebeneinander liegende Micronucleen zeigen, keine degenerierenden Richtungskörper zu finden sind, kann man vielleicht damit erklären, daß die Degeneration sehr schnell vorwärts schreitet, so daß die Richtungskörper schon verschwunden sind, wenn die Geschlechtskerne zur Verschmelzung übergehen.

Diese Deutung durch positive Befunde zu stützen, vermag ich nicht. Und so bleibt in der Erklärung der Verhältnisse, die wir in der besprochenen Cyste gefunden haben, eine gewisse Lücke. Wir wollen deshalb die Möglichkeit einer anderen Auslegung der Befunde in Betracht ziehen. Es sei angenommen, die Teilstücke mit 1 Micronucleus seien nicht, wie ich sie vorher gedeutet habe, das älteste der vorliegenden Stadien, sondern das jüngste, mit anderen Worten, die unpaar daliegenden Micronucleen (Fig. 38) seien nicht Syncaryen, sondern Nebenkerne, aus denen sich erst 2 (Fig. 35, 36, 31), dann 4 Micronucleen (Fig. 32, 33) entwickeln werden. Damit ergibt sich aber die Schwierigkeit, daß die eigentümliche, an 2 zum Teil verschmolzene Kügelchen erinnernde Form des unpaaren Micronucleus und die häufige nahe Aneinanderlagerung von je 2 Kernen in anderen

Teilstücken keine Erklärung findet. Wir werden die Deutung fallen lassen müssen, wenn wir die Befunde in anderen Cysten berücksichtigen. In einer beträchtlichen Zahl von Cysten fand ich ähnliche, einzeln in einem Sprößling liegende Micronucleen, deren Form es außer Zweifel stellt, daß sie aus der Verschmelzung von 2 Kernen hervorgegangen sind. Häufig vertreten sind Nebenkerne von der Form einer gedrungenen 8 (Fig. 39), in deren Innern man unregelmäßig geformte Chromatinfäden sieht. Diese Syncaryen scheinen mir dadurch entstanden zu sein, daß 2 runde Micronucleen sich aneinanderlegten und an der Berührungsstelle verschmolzen. Oder es legten sich 2 Spindeln aneinander und rundeten sich ab. Gleichfalls nicht selten fand ich die in Fig. 40 abgebildete vierzipflige Gestalt. Sie ist wohl aus der teilweisen Verschmelzung von 2 spindelförmigen Kernen hervorgegangen, die sich längsseitig aneinandergelegt hatten. Die Struktur dieser vierzifligen Syncaryen ist streifig. Andere Syncaryen zeigen nur 2 Zipfel (Fig. 41) an dem einen Pol und sind am anderen annähernd rund. In diesen Fällen sind die spindelförmigen Copulanten wohl in der Stellung verschmolzen, die uns Fig. 36 wiedergibt.

Daß sowohl rundliche wie längliche Kerne verschmelzen, ist keine Besonderheit des *Ichthyophthirius.* Diese Ercheinung finden wir auch bei *Carchesium polypinum* L. (Popoff), *Didinium nasutum* O. F. M. (Prandtl), *Paramaecium bursaria* Focke (Hamburger) u. a. m.

Die frischgebildeten Syncaryen lassen sich also leicht an ihren eigenartigen Formen erkennen. Außerdem zeichnen sie sich durch besondere Größe gegenüber den vor der Befruchtung stehenden Nebenkernen aus. An dem bedeutenden Umfang sind sie auch noch erkennbar, wenn sie sich abgerundet haben und in den Ruhezustand übergegangen sind. Das Ruhestadium zeigt eine typische, schön ausgebildete Netzstruktur (Fig. 42). Es bieten sich also alle Übergänge von der Aneinanderlagerung zweier Geschlechtskerne bis zum charakteristischen Syncaryon.

Fassen wir die Resultate des vorstehenden Kapitels kurz zusammen: Innerhalb eines Sprößlings entstehen aus 1 Nebenkern durch Teilung 2, dann 4. Von diesen 4 degenerieren 2 als Richtungskörper, während die beiden anderen verschmelzen.

Vielleicht wird mir der Einwand gemacht werden, ich könne eine Conjugation von Sprößlingen innerhalb der Cyste übersehen haben. Viel Wahrscheinlichkeit hat diese Vermutung nicht für sich; denn es ist kaum anzunehmen, daß sich zufällig unter meinem Material kein einziges Bild irgend eines Stadiums des Micronucleus-

austausches zwischen zwei Sprößlingen befand. Aber wenn mir auch tatsächlich ein derartiger Prozeß entgangen sein sollte, bleibt doch die Tatsache bestehen, daß die Befruchtungsvorgänge innerhalb der Cyste eintreten können, also eine autogame Befruchtung, wenn auch im weiteren Sinne des Wortes, eine Geschwisterbefruchtung, stattfindet.

Es bleibt übrig zu erörtern, in welchem Gesamtteilungsstadium innerhalb der Cyste, d. h. nach Verlauf von wieviel Teilungen — eine bestimmte Größe des Ausgangsindividuums vorausgesetzt — die geschlechtlichen Vorgänge eintreten. Dies kann ich ebensowenig bestimmt angeben, wie den Zeitpunkt der ersten Abschnürung vom Macronucleus und der sich daran zunächst anschließenden Erscheinungen. In der Größe der betreffenden Teilstücke fand ich ziemlich wesentliche Verschiedenheiten. Stadien der Kernverschmelzung fand ich z. B. in Sprößlingen von über 40 μ Länge bei über 30 μ Breite, aber auch in solchen von ca. 21 μ Länge bei 20 μ Breite. Die Mehrzahl der hier in Betracht kommenden Teilstücke war 30—40 μ lang und 20—30 μ breit. Die runden Sprößlinge hatten vorwiegend ca. 30—40 μ im Durchmesser. Der aus 40 Sprößlingen berechnete Durchschnitt ergab für die Länge des Teilstückes 36,5 μ, für die Breite 28,2 μ.

Vergleichen wir diese Maße mit den Größenangaben NERESHEIMER's, so finden wir, daß der Autor die Geschlechtsprozesse in etwas größeren Sprößlingen beobachtet hat, nämlich in solchen, die „etwa 40 μ Durchmesser" hatten. Man darf wohl annehmen, daß diese Differenz unerheblich ist.

In den wesentlichen Punkten — die Reifungsteilungen ausgeschlossen — herrscht zwischen NERESHEIMER's und meinen Angaben Übereinstimmung. Besonders wichtig ist, daß wir beide eine Verschmelzung zweier Micronucleen feststellten. Daß NERESHEIMER die gleichen Vorgänge, die ich innerhalb der Cyste antraf, in Sprößlingen, die der Hülle schon entschlüpft waren, verfolgte, ist nicht auffallend, wenn man berücksichtigt, daß die Cysten in sehr verschiedenen Stadien platzen. Ein Beispiel für eine frühzeitige Zerstörung der Hülle lieferte mir eine Cyste mit ca. 64 Sprößlingen von 50—60 μ. Ich fixierte sie sofort nach dem Zerplatzen. Die Micronucleen standen, ihrer Form nach zu urteilen, noch vor den geschlechtlichen Teilungen. In einem Falle fand ich auch wie NERESHEIMER auf einer Fischflosse junge Schmarotzer mit 2 Nebenkernen. Sonst sah ich nur Individuen mit 1 oder ohne jeden Nebenkern.

Die metagamen Vorgänge.

Die der Cyste entschlüpfenden Sprößlinge zeigen meistens einen Nebenkern. Bei den schon einige Zeit schmarotzenden Individuen ist dieser nicht mehr zu finden. Diese eigentümliche Tatsache erklärte Neresheimer damit, daß der Nebenkern in den Hauptkern einwandere.

Wir haben in der Einleitung des vorigen Kapitels erfahren, daß Neresheimer Stadien der Syncaryonbildung in schon der Cyste entschlüpften Sprößlingen fand. Dieses Syncaryon, so gibt der Autor an, bildet sich zu einer Spindel um, nähert sich in dieser Form dem Hauptkern und dringt schließlich in ihn hinein. Hier ist es noch eine Zeitlang „nach Art eines Caryosoms" sichtbar. Bei etwas älteren Individuen ist der Kleinkern spurlos verschwunden.

Im wesentlichen fand ich diese Angaben bestätigt. In den meisten Präparaten ganz junger Schmarotzer sah ich den Micronucleus in einigem Abstand vom Hauptkern, in dessen Nähe oder ihm unmittelbar anliegend. In einem Falle schien der Hauptkern an einer Stelle ein wenig aufgespalten, in der Spalte lag der Nebenkern. Häufig befand der Micronucleus sich innerhalb eines vacuolenartigen Raumes inmitten des runden oder ovalen Macronucleus. In größeren Individuen mit langgestrecktem oder hufeisenartigem Hauptkern war kein Micronucleus mehr zu sehen. Vergeblich suchte ich nach Umwandlungsprozessen im Hauptkern, in dem der Micronucleus verschwunden war. Davon ließ sich jedoch nirgends etwas wahrnehmen. Das Wachstum des Hauptkerns und des Protoplasmas, das wohl schon mit Beginn des parasitischen Lebens eintritt, setzt sich ohne wahrnehmbaren Unterschied fort.

Nur in einem Punkte stimmen meine Beobachtungen nicht mit den Neresheimer'schen überein: Die Form der Micronucleen, sowohl der isoliert im Plasma liegenden wie der in der Nähe des Hauptkernes befindlichen oder in diesen eindringenden, war bei meinem Material nur in wenigen Fällen spindelförmig, sondern meistens rund. Es ist also nicht die Regel, daß aus dem Syncaryon eine Spindel wird und es in dieser Form in den Hauptkern eindringt.

Die Einwanderung des Neben- in den Hauptkern konnte ich aber auch außer in den jungen parasitierenden Ichthyophthirien in Sprößlingen, die noch von der Cyste umhüllt waren, konstatieren.

In einer geringen Cystenzahl (10) konnte ich in den recht kleinen Teilstücken keine Micronucleen finden. Ich mußte also annehmen, daß die Nebenkerne entweder zurückgebildet worden seien, vielleicht

infolge eines pathologischen Zustandes in den Cysten, oder aber, daß sie schon auf diesem Stadium in den Macronucleus eingewandert seien.

Reste degenerierender Micronucleen fanden sich nicht, dagegen wohl Bilder, die auf eine Einwanderung des Neben- in den Hauptkern schließen lassen. In Fig. 43 sehen wir den Neben- hart am Hauptkern, Fig. 44 zeigt den Micro- im Macronucleus; es scheint sogar noch eine vom Innern des Hauptkernes in das Plasma führende Spalte vorhanden zu sein, jedoch halte ich es nicht für ausgeschlossen, daß hier eine zufällige mechanische Verletzung vorliegt. Fig. 45 gibt einen der öfters angetroffenen Fälle wieder, wo der Micronucleus deutlich in einem Hof innerhalb des Kauptkernes sichtbar ist. Ich betone, daß ich Total- und Schnittpräparate dieser Stadien durchgesehen habe, eine optische Täuschung also ausgeschlossen ist.

Bei einem Vergleich der Abbildungen fällt uns auf, daß die Sprößlinge, in denen die Geschlechtsprozesse zu sehen sind (Fig. 25 bis 30 u. 42) bedeutend größer sind als diejenigen, welche Stadien des Einwanderungsprozesses von Micro- in Macronucleus zeigen (Fig. 43—45). Dieser Größenunterschied läßt vermuten, daß es noch nach der Nebenkernverschmelzung zu Teilungen der in der Cyste befindlichen Individuen kommt. Wir wollen deshalb versuchen, mit Hilfe von Messungen der Sprößlinge aus den betreffenden Stadien Klarheit zu gewinnen.

Es wurde eine große Menge von Cysten möglichst spät nach Beginn der Teilungen fixiert, wenn schon die bedeutende Zahl und zunehmende Beweglichkeit der Sprößlinge darauf deuteten, daß die Sprengung der Cyste bevorstehe. Auf diese Weise gewann ich diejenigen Stadien, die man als die normalen Endprodukte der Teilungen innerhalb der Cyste ansehen kann. Diese Sprößlinge besitzen mit wenigen Ausnahmen, welche ich später erörtern werde, 1 Micronucleus. Er ist meist rund und hat die Struktur des im Ruhestadium befindlichen Syncaryon, seltener zeigt er sich spindelförmig gestreift. Der Macronucleus ist von runder, ovaler, manchmal sogar ausgesprochen länglicher Form. Die Messungen dieser Sprößlinge ergaben recht verschiedene Resultate. Ich fand alle Abstufungen von 25—35 μ für die Länge und 19—26 μ für die Breite. Die Durchschnittsberechnung ergab für die Länge 27 μ, für die Breite 23 μ.

Wenn wir diese Maße mit denen vergleichen, welche ich auf S. 91 für die Sprößlinge aus dem Stadium der Geschlechtsvorgänge angab, so können wir nur folgern, daß wahrscheinlich eine metagame Teilung in den Fällen eintritt, wo der Sprößling, in dem die Be-

fruchtung stattfindet, relativ groß ist, daß sie aber unterbleibt, wenn das Teilstück, in dem es zur Geschlechtskernverschmelzung kommt, relativ klein ist.

Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht ein Befund in einem speziellen Falle. In einer Cyste lagen die Micronucleusverhältnisse so, daß sich mit einiger Sicherheit auf eine metagame Teilung schließen ließ. In den meisten der 40:30 μ großen Teilstücke der Cyste zeigten sich die Micronucleen als typische Syncaryen, die einen waren eben durch eine Verschmelzung entstanden und hatten noch unregelmäßige Formen, wie ich sie oben beschrieben habe, die anderen waren schon älter und abgerundet, in den übrigen Sprößlingen fanden sich Spindeln und zwar im Äquatorialplattenstadium befindliche und jüngere. Da es wohl kaum anzunehmen ist, daß die Spindeln viel jünger als die Syncaryen sind und sich aus ihnen erst durch 2 Teilungen die reifen Kerne entwickeln werden, muß man wohl folgern, daß sich die Spindeln aus den Syncaryen entwickelt haben und daß sie eine metagame Teilung des Sprößlings vorbereiten.

Schließlich habe ich noch einige sehr seltene Fälle zu erwähnen, wo es durch zweifellos metagame Teilungen zur Bildung ganz ungewöhnlich kleiner Teilstücke gekommen ist. Ich fand z. B. in einer Cyste neben Sprößlingen von der Größe, die wir in der Regel in den späten Stadien antreffen (vgl. S. 93), noch ungefähr um die Hälfte kleinere. Außerdem fanden sich Teilungsstadien vor, welche die Entstehung der kleineren aus den größeren Stadien zeigten (Fig. 49).

Schwierigkeiten bieten nur die Micronucleusverhältnisse in dieser Cyste. Die größeren Sprößlinge besitzen zum Teil 1, zum Teil 2 Micronucleen (Fig. 46 u. 47). In den kleineren, auch den eben aus der Teilung hervorgehenden (Fig. 49), ist kein Nebenkern zu ermitteln. Dieses Verhalten läßt verschiedene Deutungen zu.

Zunächst können wir annehmen, daß die micronucleusfreien Sprößlinge nur von den mit 1 Nebenkern versehenen herzuleiten sind und der Micronucleus vor der Teilung des Sprößlings in den Macronucleus eingewandert ist. In denjenigen Sprößlingen aber, wo wir 2 Nebenkerne finden, ist es nochmals zur Micronucleusteilung gekommen; der Hauptkern wird sich erst später durchschnüren. Von den entstehenden Sprößlingen erhält jeder einen der beiden Micronucleen. Daß solche kleineren Sprößlinge mit 1 Micronucleus nicht zu sehen sind, wäre als Zufall zu erklären.

Oder wir betrachten die 3 Sprößlingsformen als Stadien einer regelmäßigen Entwicklungsreihe: Aus 1 Micronucleus gehen durch

Teilung 2 hervor, noch bevor der Macronucleus zur Teilung schreitet. Wenn die Teilung des Sprößlings beendet ist, sind die Nebenkerne schon in den Hauptkern eingewandert. Für die Einwanderung bestehen zwei Möglichkeiten: Entweder gelangt je 1 Micronucleus bei der Teilung des Sprößlings in eine der Hälften und dringt dort in den Hauptkern ein, noch ehe dieser die Teilung vollständig beendet hat, oder die beiden Micronucleen wandern schon vor der Teilung des Hauptkernes in diesen hinein. Gegen die erste Annahme sprechen Befunde aus anderen Cysten. Dort treffen wir im Beginne der Teilung stehende Sprößlinge schon ohne Micronucleus an (Fig. 48). Gegen die zweite Annahme habe ich keine Bedenken. Es ließe sich auch gut vorstellen, daß die 2 Micronucleen derart in den Hauptkern wandern, daß bei der folgenden Teilung jede seiner Hälften einen derselben enthält.

Ich halte es aber auch nicht für ausgeschlossen, daß die Befunde gänzlich anders gedeutet werden müssen. Die Durchschnittsgröße der Teilstücke mit 1 oder 2 Micronucleen beträgt $25:20\ \mu$, sie ist also nicht geringer als mancher Sprößling des Befruchtungsstadiums. Demnach bestände die Möglichkeit, daß die einzeln im Teilstück vorhandenen Micronucleen Syncaryen sind, die paarig auftretenden aber noch vor der Verschmelzung stehende Kerne. Daß keine Bilder aus dem Verlauf einer Copulation zu sehen sind, müßte als Zufall erklärt werden; zumal auch nur wenige Teilstücke mit 2 Nebenkernen vorliegen, wäre dies nicht gänzlich von der Hand zu weisen. Wir müßten weiterhin annehmen, daß die paarigen Micronucleen noch zu Syncaryen verschmelzen, diese in die Hauptkerne einwandern und Teilungen von Macronucleus und Plasma folgen werden.

Für welche Deutung wir uns auch entscheiden, als Resultat ergibt sich, daß metagame Teilungen vorkommen.

Nachträglich seien die Micronucleusverhältnisse bei *Ichthyophthirius* noch mit den bei *Leucophrys patula* Ehrbg. herrschenden verglichen. Dieses ciliate Infusor zeichnet sich durch einen Dimorphismus aus. Bei der kleineren der beiden Formen fehlt nach v. Prowazek (1909) vielfach der Micronucleus; „er scheint in das Innere des Macronucleus einzudringen". Die Abbildungen, welche v. Prowazek gibt, erinnern stark an die Einwanderung des Neben- in den Hauptkern bei *Ichthyophthirius*.

Der Zeugungskreis des *Ichthyophthirius.*

Zum Schluß sei der Zeugungskreis unseres Infusors nochmals, mit Hilfe eines Schemas, dargestellt (Textfig. A). Fig. 1 zeigt die Form des erwachsenen Parasiten. Fig. 2 stellt die Encystierung

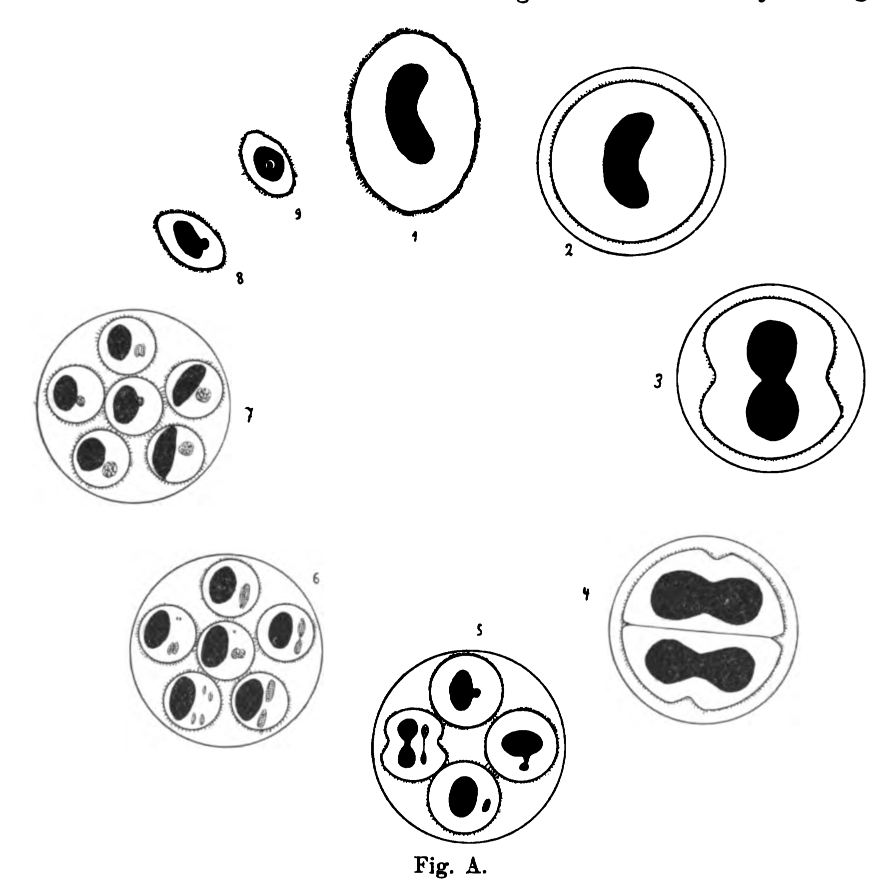


Fig. A.

des vom Wirte abgewanderten Infusors dar. Fig. 3 gibt eine Teilung vor dem Auftreten des Micronucleus wieder, Fig. 4 eine weitere der gleichen Art. Fig. 5 soll ein Bild von dem Verlauf der ersten Abschnürung, der Umbildung des abgeschnürten Körpers zum Nebenkern und der Teilnahme desselben an den folgenden Teilungen geben. Daß alle diese Prozesse innerhalb einer Cyste zu finden sind, kommt in der Natur wohl kaum vor; die Darstellung ist nur der Übersichtlichkeit halber gewählt worden. In Fig. 6 finden wir die Richtungskörperbildung und die Befruchtung wiedergegeben.

Fig. 7 zeigt die Sprößlinge mit dem Syncaryon und Fig. 8 einen der Cyste entschlüpften jungen *Ichthyophthirius*, der noch den Micronucleus aufweist. In Fig. 9 sieht man den Nebenkern im Macronucleus liegen.

In diesem Schema sind die besprochenen mannigfaltigen Modifikationen unberücksichtigt gelassen, z. B. die metagamen Teilungen in der Cyste. Ebenso haben die freien Teilungen, d. h. die ohne Cystenbildung eintretenden, keine Berücksichtigung gefunden, da ich ihnen keine prinzipielle Bedeutung beimesse.

Allgemeiner Teil.

Der Entwicklungscyclus des *Ichthyophthirius* bietet eine Reihe wesentlicher Abweichungen von dem anderer Infusorien. Zunächst fällt auf, daß die Vermehrung ähnlich wie bei Rhizopoden innerhalb einer Cyste stattfindet. Aber auch die Entstehung des Micronucleus, die eigentümlichen häufigen Abschnürungen vom Hauptkern, die Autogamie und die metagamen Vorgänge überraschen sehr und fordern zu Erklärungsversuchen heraus.

Überblickt man den ganzen Entwicklungscyclus, so liegt es nahe, die Vermehrung innerhalb einer Cyste in Zusammenhang mit der parasitären Lebensweise des Infusors zu bringen. Die altbekannte Erscheinung, daß die Gefahr des Aussterbens einer parasitischen Art durch eine sicher zum Ziele führende Fortpflanzungsmethode ausgeglichen wird, tritt auch hier wieder hervor. Zweifellos wäre eine Vermehrung durch Teilungen außerhalb einer Cyste und eine Conjugation zwischen frei im Wasser schwimmenden Individuen unsicherer, als die Fortpflanzung in der Cyste. Es wäre zwar denkbar, daß auch in der Epidermis des Wirtes günstige Bedingungen für die Fortpflanzung vorlägen. Die Befunde scheinen jedoch dagegen zu sprechen.

Die Tatsache, daß in der Fischepidermis keine Fortpflanzungsprozesse stattfinden, ließe sich mit Hilfe der R. Hertwig'schen Auffassung von der Natur der Vermehrungsvorgänge, insbesondere der geschlechtlichen, erklären. Den geschlechtlichen Vorgängen gehen nach R. Hertwig Hungerteilungen voraus. Die Teilungen des *Ichthyophthirius* innerhalb der Cyste könnte man als Hungerteilungen auffassen. Daß aber die Hungerteilungen nicht zustande kommen können, solange das Infusor schmarotzt, bedarf keiner Erklärung.

Bei dieser Betrachtung ist festzuhalten, daß die wenigen beobachteten Teilungen auf dem Fisch nicht innerhalb der vom Epithel ausgeschiedenen Bläschen stattfanden.

Die Entwicklungsweise des Micronucleus hat NERESHEIMER als eine Art Sporetienbildung im Sinne der SCHAUDINN-GOLDSCHMIDTschen Theorie vom Dualismus der Kernsubstanzen gedeutet. Nach seiner Auffassung ist die Abschnürung des Micronucleus vom Macronucleus nichts anderes als die Absonderung der propagatorischen von der somatischen Substanz. Der Micronucleus des *Ichthyophthirius* scheint NERESHEIMER „das natürliche Bindeglied“ zwischen den „Sporetien“ mancher Protozoen (Amöben, Foraminiferen, Mastigamöben, *Opalina*) und „dem dauernd vom Hauptkern getrennten Nebenkern der typischen Ciliaten“ zu sein.

Es fragt sich nun, ob diese Auffassung aufrecht erhalten werden kann, wenn man die Wiederholungen der Abschnürungen in Betracht zieht. Für den auf dem Boden der genannten Theorie Stehenden ergibt sich die Alternative, in den späteren, nicht mehr zu Micronucleen werdenden Abschnürungen entweder somatische „Chromidien“, d. h. vegetative Körper, die mit der Geschlechtsfunktion nichts zu tun haben, oder „Sporetien“, propagatorische Chromidien, zu sehen. Bestätigt sich, daß die zweite Abschnürung auch zum Micronucleus werden kann, so könnte man vielleicht schließen, daß die späteren Abschnürungen von den ersten nicht absolut verschieden seien, sondern rudimentär gewordene Micronucleen darstellten.

Diese Betrachtungsweise führt zu einem Vergleich mit den von LEBEDEW beschriebenen Verhältnissen bei *Tracheloceroa phoenicopterus* COHN. Bei diesem primitiven holotrichen Infusor entsteht durch Auflösung des einzigen Kernes eine große Anzahl kleiner Kerne, von denen sich viele micronucleusartige Gebilde herleiten. Von diesen gehen alle zugrunde außer einem einzigen, der bei der Conjugation in Funktion tritt.

Die Ähnlichkeit zwischen *Trachelocerca* und *Ichthyophthirius* besteht darin, daß beide zeitweise nur einen Kern haben, daß sich von diesem aus eine größere Zahl micronucleusartiger Körper bilden, von denen aber nur einer ganz dem Nebenkern der typischen Infusorien entspricht.

Dieser Vergleich ist die Erweiterung eines anderen, den LEBEDEW auf Grund der NERESHEIMER'schen Arbeit anstellte. Er wies darauf hin, daß beide Arten nicht immer einen Micronucleus haben und daß man die Micronucleusbildung bei *Trachelocerca* als Vorstufe zu der Entwicklung des Nebenkernes aus einer Macronucleusabschnürung,

wie wir sie bei *Ichthyophthirius* finden, auffassen kann. Der Autor kam zu dem Schluß, daß *Ichthyophthirius* hinsichtlich der Kernverhältnisse eine Mittelstellung zwischen *Trachelocerca* und den typischen Infusorien einnehme, d. h. daß die Micronucleusentstehung bei *Ichthyophthirius* von *Trachelocerca* zu den typischen Infusorien überleite. Diese Erklärung scheint mir sehr einleuchtend: Während *Trachelocerca* bei Beginn der schließlich zur Befruchtung führenden Prozesse den Hauptkern verliert, sehen wir diesen bei *Ichthyophthirius* noch, während der Micronucleus in Funktion tritt. Daß er sogar darüber hinaus erhalten bleibt, sei an dieser Stelle außer Betracht gelassen.

Auf der anderen Seite aber bildet, wie LEBEDEW im Anschluß an die Gedankengänge von HARTOG, LÜHE und GOLDSCHMIDT ausführt, *Trachelocerca* ein Bindeglied zwischen den Fortpflanzungserscheinungen bei den primitiven Protozoen wie den Rhizopoden (und *Opalina*) und *Ichthyophthirius* (und den typischen Infusorien). In vielen Beziehungen erinnere der Lebenscyclus von *Trachelocerca* stark an den primitiver Protozoen. So erhalten wir nach LEBEDEW eine Reihe: Rhizopoden—*Trachelocerca*—*Ichthyophthirius*—typische Infusorien, die uns ein Bild von der phylogenetischen Entwicklung des typischen Infusorienmicronucleus geben kann.

Bei dem Vergleich des Cyclus von *Trachelocerca* mit dem der Rhizopoden stellte LEBEDEW die Bildung der Geschlechtskerne bei *Trachelocerca* mit der Sporogonie der Rhizopoden in Parallele. Der Autor ging dabei von der Hypothese aus, daß allgemein die Micronucleusbildung der Infusorien mit der Gametenbildung der anderen Protozoen vergleichbar sei.

Die Anwendung dieser Hypothese, welche HARTOG, LÜHE und GOLDSCHMIDT unabhängig voneinander aufstellten, auf die Verhältnisse bei *Trachelocerca* hat etwas sehr Bestechendes. Wir wollen versuchen, den Vergleich bei dem Entwicklungskreis von *Ichthyophthirius* durchzuführen. Um die Frage nicht allzu kompliziert erscheinen zu lassen, sei die Autogamie an dieser Stelle nicht berücksichtigt, sondern angenommen, daß wir es mit einer Conjugation zu tun hätten.

Nach jener Theorie entsprächen die Micronucleusteilungen des *Ichthyophthirius*, welche zur Bildung der Geschlechtskerne führen, den gametenbildenden Teilungen der Rhizopoden. Die Sprößlinge in den Cysten wären den Gamonten homolog. Die Teilungen des Infusors in die Sprößlinge (innerhalb der Cyste) wären demnach gamontenbildende, also ungeschlechtliche Teilungen.

Anders beurteilte Popoff, der die Neresheimer'sche Arbeit damals noch nicht gekannt zu haben scheint, die Vorgänge in der Cyste. Dieser Autor sieht die Teilungen, durch welche die Sprößlinge erzeugt werden, als geschlechtliche, die Sprößlinge als Gameten an. Die Art, wie der *Ichthyophthirius*-Sprößling die Geschlechtskerne erzeugt, scheint mir nicht gerade dafür zu sprechen, daß wir in ihm einen Gameten sehen dürfen. Jedenfalls müßte man dann die Micronucleusentstehung und besonders die späteren Abschnürungen nicht als primitive Vorgänge im Vergleich zu den Verhältnissen der typischen Infusorien, sondern als eine komplizierte Weiterbildung auffassen. Wir würden dann wohl auch die Vorstellung, daß die späteren Abschnürungen rudimentäre Micronucleen seien, fallen lassen und eine andere Deutung suchen müssen.

Eine Möglichkeit wäre, die vielfachen Abschnürungen von Kernmasse als regulatorischen Vorgang im Sinne der R. Hertwig'schen Kernplasmarelationstheorie anzusehen. Bei den Teilungen in der Cyste verschiebt sich vielleicht das Verhältnis von Kern zu Plasma zugunsten des Kernes, so daß die Abgabe von Kernmasse an das Plasma — die späteren Abschnürungen werden resorbiert — ausgleichend wirkt.

Es scheint mir aber auch nicht ausgeschlossen, daß die Abschnürungen vom Macronucleus mit der Tatsache, daß man den Hauptkern nie völlig zerfallen sieht, in Zusammenhang zu bringen sind. Die späteren Abschnürungen beständen demnach nicht aus propagatorischem, sondern aus somatischem Chromatin. Man hätte sich ungefähr vorzustellen, daß nach anfänglicher Abgabe der propagativen Substanz somatische ausgeschieden würde, deren charakteristische Eigenschaft die ist, daß sie funktionslos wird und im Plasma verschwindet; der restierende Macronucleus aber, in den der Micronucleus einwandert, bleibe nur scheinbar bestehen, seine Substanz werde durch den Micronucleus verjüngt.

In ähnlichem Sinne hat Neresheimer die Einwanderung des Micronucleus in den Macronucleus gedeutet. Er nimmt an, daß „die Substanz des Großkernes allmählich durch Verbrauch zugrunde gehe und durch die Substanz des scheinbar spurlos in ihm verschwundenen Syncaryons ersetzt werden dürfte“.

Bezüglich der Autogamie habe ich den Ausführungen im speziellen Kapitel nicht viel zuzufügen. Es fällt auf, daß hier wiederum eine Autogamie bei einem Parasiten festgestellt ist. Die Umstände deuten darauf hin, daß die Selbstbefruchtung eine Neuerwerbung ist, die

sich im Anschluß an die parasitäre Lebensweise entwickelt hat. Damit wird Hartmann's Auffassung, daß die Autogamie aus der Heterogamie hervorgegangen sei, auch in diesem Falle bestätigt.

Literaturverzeichnis.

Bütschli, O. (1876): Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. in: Abhandl. d. Senckenb. naturf. Ges. V, 10.

— (1883): Protozoa. Abt. III. Infusoria und System der Radiolarien. in: Bronn's Kl. u. Ordn. d. Tierreichs. Leipzig 1887—1889.

Clevisch, A. (1904): Über die Bildung des Micronucleus bei Ichthyophthirius multifiliis (Fouquet). Dissertation Bern.

Doflein, F. (1901): Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena.

Fouquet, D. (1876): Notes sur une espèce d'infusoires parasites des poissons d'eau douce. Arch. de Zool. expér. V.

Hartog (1891): Some problems of Reproduction, etc. Quaterly Journal of Microscopic Science. Dec. 1891. (Vol. XXXIII.)

Hilgendorf, F. und Paulicki, A. (1869): Infusionstierchen als Hautparasiten bei Süßwasserfischen. Centralbl. f. d. med. Wissensch. Bd. 7.

Hofer, B. (1904): Handbuch der Fischkrankheiten. München.

Kerbert, C. (1884): Chromatophagus parasiticus nov. gen. et nov. spec. „Nederlandsch tijdschr. v. de dierkunde", Jaarg. V, 1.

Lebedew, W. (1908): Über Trachelocerca phoenicopterus Cohn. Arch. f. Protistenk. XIII, 1.

Neresheimer, E. (1907): Zur Fortpflanzung eines parasitischen Infusors (Ichthyophthirius). Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München Bd. XXIII, 2.

— (1908): Der Zeugungskreis des Ichthyophthirius. Ber. d. k. k. biol. Versuchsstation in München Bd. I. Stuttgart.

Popoff, M. (1908): Die Gametenbildung und die Conjugation von Carchesium polypinum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXIX, 3.

Prowazek, S. v. (1909): Leucophris patula. Memorias do instituto Oswaldo Cruz Bd. I.

Roth, W. (1908): Beiträge zur Kenntnis des Ichthyophthirius multifiliis Fouquet. Blätter f. Aquarien- u. Terrarienkunde Bd. XIX p. 47—50. Stuttgart 1908.

Stiles, C. (1894): Report on a parasitic protozoan observed on fish in the aquarium. House miscellan. documents. 2d Sess. 53d long. 1893—94 Vol. 20. Bull. of the U. S. Fish Commission Vol. XIII 1893.

Zacharias, O. (1893): Über eine Ichthyophthirius-Art aus den Aquarien der biologischen Station zu Plön. Festschrift zum 70. Geburtstag Leuckart's. Leipzig 1892.

Zernecke, E. (1897): Leitfaden f. Aquarien- u. Terrarienfreunde. I. Aufl. Berlin 1897.

Tafelerklärung.

Tafel IV u. V.

Die Figuren 12 und 31—41 sind bei einer Vergrößerung von 1×3000 (Leitz Immersion $^1/_{12}$, Zeiss Comp.-Ocular 12), alle übrigen im Maßstab 1×1200 (Leitz Immersion $^1/_{12}$, Zeiss Comp.-Ocular 4) mit dem Abbé'schen Zeichenapparat gezeichnet worden.

Fig. 1. Innerhalb einer Cyste befindlicher Sprößling, in dem der Hauptkern an seiner Peripherie eine Chromatinanhäufung zeigt.

Fig. 2—4. Verschiedene Stadien der Abwanderung des abgeschnürten Körpers vom Hauptkern.

Fig. 5. Der abgeschnürte Körper liegt isoliert im Plasma.

Fig. 6. Der abgeschnürte Körper hat sich aufgehellt.

Fig. 7. Der abgeschnürte Körper mit Lininnetzstruktur.

Fig. 8. Neben dem Hauptkern liegt ein zweiter abgeschnürter Körper. Im ersten deutliche Netzstruktur.

Fig. 9. Beginn der Umbildung zur Spindel. Die Lininfäden sind in die Länge gezerrt.

Fig. 10. Weiteres Stadium der Spindelausbildung.

Fig. 11. Eine dem Äquatorialplattenstadium nahe Stufe. Eine zweite Abschnürung gerade vollzogen.

Fig. 12. Nebenkernspindel stärker vergrößert.

Fig. 13—17. Stadien der Bildung einer Teilungsspindel.

Fig. 18—20. Teilung des Sprößlings einschließlich des Nebenkernes.

Fig. 21. Zwei Abschnürungskörper; der rechts gelegene (schwach gestreifte) ist dem anderen in der Entwicklung ein wenig voraus.

Fig. 22. Wie 21, aber deutliche Merkmale vom Beginn der Teilung am Sprößling (Plasmaeinschnürung).

Fig. 23. Bildung einer dritten Abschnürung.

Fig. 24. Gleichzeitige Abschnürung zweier Körperchen.

Fig. 25—28. Micronucleusteilung, die zur Bildung zweier Nebenkerne führt.

Fig. 29 u. 30. Vermehrung zu 4 Micronucleen.

Fig. 31—41. Erklärung cf. Text.

Fig. 42. Syncaryon und spätes Abschnürungskörperchen.

Fig. 43. Der Micronucleus legt sich an den Hauptkern.

Fig. 44 u. 45. Micro- im Macronucleus.

Fig. 46. Sprößling mit einem großen Nebenkern (Syncaryon), wie er sich am häufigsten in den kurz vor der Zersprengung stehenden Cysten findet.

Fig. 47—49. Cf. Text.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.
Laboratorium M. Hartmann.)

Bau und Vermehrung von *Trypanoplasma helicis.*

Von
Victor Jollos.

(Hierzu Tafel VI.)

Während der Bau und die Vermehrung der Trypanosomen durch Schaudinn, Prowazek, Rosenbusch u. a. recht genau erforscht worden ist, sind unsere Kenntnisse von den mit ihnen verwandten Trypanoplasmen noch äußerst dürftig. Ein wesentlicher Grund hierfür ist wohl in der bis vor kurzem ungleich schwierigeren Materialbeschaffung zu suchen. Es war daher sehr dankenswert, daß Friedrich (1909) neuerdings auf eine leicht zu erhaltende Trypanoplasmaart *Trypanoplasma helicis* aus dem Receptaculum seminis der Weinbergsschnecke (*Helix pomatia*) und verwandter Formen hingewiesen hat. Die cytologischen Angaben Friedrich's sind freilich unzureichend und zum Teil geradezu unrichtig, so daß eine genauere Untersuchung der von ihm beschriebenen Art geboten schien.

Die Untersuchung von *Trypanoplasma helicis* stößt auf keine besonderen Schwierigkeiten. Im Receptaculum seminis sämtlicher von mir untersuchten Weinbergschnecken aus der Umgegend von Berlin fanden sich die Parasiten zum Teil in sehr großer Zahl. Es ließen sich daher ohne weiteres Präparate für die Lebenduntersuchung und Ausstriche zur Fixierung und Färbung herstellen. Für die Lebendbeobachtung ist der Zusatz von etwas Kochsalzlösung meist nötig, die man bei der Anfertigung von Dauerpräparaten nach Möglichkeit vermeidet.



Zum Fixieren benutzte ich neben Sublimat-Alkohol nach Schaudinn vor allem das Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemisch von Flemming, zum Färben Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Es sei hierbei erwähnt, daß für *Trypanoplasma helicis* — im Gegensatz zu den Trypanosomen — die gewöhnliche Heidenhainfärbung der Modifikation von Rosenbusch (mit Lithiumkarbonat) vorzuziehen ist.[1])

Schon bei der Lebendbeobachtung fällt die Formenmannigfaltigkeit der Parasiten auf. Neben kleinsten schmalen Individuen findet man solche, die sie um das 4—5fache und noch mehr an Größe übertreffen, neben langen, schlanken Formen (Fig. 7, 8, 12) plumpe, breite, wie sie in Fig. 10 u. 3 unserer Tafel wiedergegeben sind. Auch mehr oder weniger runde Parasiten kann man nicht selten sehen. Das Wesen und die Bedeutung dieser Verschiedenheiten, die im gefärbten Präparat zum Teil noch mehr hervortreten, soll in der vorliegenden Mitteilung noch nicht analysiert werden; erwähnt sei nur, daß sich wohl sämtliche von Keysselitz (1906) als verschiedene Entwicklungsstadien bei *Trypanoplasma borreli* aus Fisch und Egel beschriebenen Formen ganz ähnlich bei *Trypanoplasma helicis* im Receptaculum seminis der Schnecke vorfinden, mitunter sogar fast alle nebeneinander in dem gleichen Wirtsindividuum.

Neben der Mannigfaltigkeit der Gestalt fällt vor allem die geringe Dicke der Flagellaten ins Auge. Besonders die größeren Formen erscheinen bei ihrer häufigen Drehung geradezu als flache Scheiben.

Endlich sind auch die Geißeln im Leben deutlich zu beobachten, und man kann mit aller Sicherheit erkennen, daß es sich um eine freie und eine dem Körper fest anliegende Saumgeißel (undulierende Membran) handelt, welch letztere über den Körper weg als — mehr oder weniger lange — freie Endgeißel ausgeht. Diese Feststellungen am lebenden Flagellaten sind besonders deswegen wichtig, weil sich die Saumgeißel bei der Fixierung häufig vom Körper abhebt, so daß

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. In einer inzwischen erschienenen Abhandlung (Parasitology Vol. 3 Nr. 2) sucht Swellengrebel zu zeigen, daß bei *Trypanosoma lewisi* die alte Giemsa-Trockenpräparatmethode auch in cytologischer Hinsicht den Hämatoxylinfärbungen nach feuchter Fixierung mindestens ebenbürtig sei. Da diese Angaben bei cytologischer Forschungsweise Fernerstehenden nur Verwirrung hervorrufen können, so sei bemerkt, daß das Resultat von Größenmessungen hier, wo es sich um feinste Strukturdifferenzierungen handelt, nichts beweisen kann. Die Figuren aber, die Swellengrebel zum Beleg veröffentlicht, erscheinen den Abbildungen etwa von Rosenbusch und Minchin nicht im entferntesten gleichwertig. Im übrigen hat bereits Giemsa selbst (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 54) klar gezeigt, wie sehr bei Trockenpräparaten der Bau des Kernes verwischt und verändert wird.

man beim Studium gefärbter Präparate mitunter im Zweifel sein könnte, ob es sich um einen Vertreter der Gattung *Trypanoplasma* oder *Prowazekia* (HARTMANN u. CHAGAS 1910) handelt.

Weitere Einzelheiten des Baues sind im Leben nicht leicht zu sehen. An ausnahmsweise ruhig liegenden Individuen erkennt man zwar die Konturen des Kernes und (weniger deutlich) des Blepharoplasten; alle feineren Strukturen aber entziehen sich der Beobachtung, so daß man hier auf das Studium gefärbter Präparate angewiesen ist.

Im gefärbten Präparat zeigt das Plasma einen fein alveolären Bau, wie er von den Trypanosomen bekannt ist. Der Kern nimmt keine bestimmte Lage in der Zelle ein. Man sieht ihn ungefähr ebenso häufig im vorderen Teile wie in der Mitte oder im hinteren Drittel. Er ist nicht übermäßig groß, meist annähernd rund und wird von einer derben Membran umschlossen. Sein Bau entspricht im wesentlichen durchaus dem der Trypanosomenkerne; auch hier ist also, wie bereits an anderer Stelle erwähnt (HARTMANN u. JOLLOS 1910), fast die gesamte chromatische Substanz auf ein großes Kernkörperchen (Caryosom) konzentriert, das von der Kernmembran durch eine sich gewöhnlich nur ganz schwach färbende Kernsaftzone getrennt wird.[1]) Mitunter lassen sich feine Verbindungsbrücken zwischen Membran und Caryosom feststellen (Fig. 12). Zu einer Ausbildung von „Chromosomen“ kommt es aber im Ruhezustand ebensowenig wie bei den Trypanosomen.

Im Innern des Caryosoms befindet sich ein Teilungsorganell (Centriol), dessen Differenzierung allerdings wie bei den Trypanosomen beim ruhenden Kern nur relativ selten gelingt (Fig. 2), während es auf manchen der noch zu beschreibenden Teilungsstadien sehr deutlich hervortritt. Das Caryosom selbst besitzt ziemlich unregelmäßige Gestalt, so daß man oft den Eindruck gewinnt, als wenn bei *Trypanoplasma helicis* mit einem eigentlichen Caryosom chromatische Substanz des Außenkernes verbacken ist. Für diese Auffassung spricht auch die mitunter recht exzentrische Lage des Centriols.

Während der Kern (oder genauer Hauptkern) keinen bestimmten Platz in der Zelle einnimmt, ist das zweite Kerngebilde der Try-

[1]) Die Angabe FRIEDRICH's, *Tr. helicis* besäße kein Caryosom, ist wohl ebenso wie die entsprechend irrigen Beschreibungen der früheren Trypanosomenuntersucher auf ungenügende Fixierung und Färbung zurückzuführen. In der Tat kann die Kernstruktur bei Trockenpräparaten so sehr verändert werden, daß statt des Caryosoms eine Art Ring erscheint.



panoplasmen, der **Blepharoplast** oder Kinetonucleus, fast immer im vorderen Drittel und gewöhnlich nahe am Rande gelegen. Seine Gestalt und Größe dagegen variiert stark. Wohl am häufigsten sieht man Bilder, wie sie Fig. 1 der Tafel zeigt. Der Blepharoplast ist hier vorn stark angeschwollen und wird nach hinten zu immer schmaler. Im ganzen erinnert er dann etwas an eine kurze Tabakpfeife. Daneben trifft man aber auch alle möglichen anderen Formen vom schmalen langgestreckten Blepharoplasten (Fig. 2) bis zum vollständig runden (Fig. 6). Die langgestreckten Blepharoplasten können nun nicht selten ungefähr in der Mitte umklappen, so daß sie dann zweischenklig erscheinen (Fig. 4). FRIEDRICH hat verschiedene derartige Formen abgebildet (Fig. 19—21 seiner Arbeit), sie aber unzutreffend als Teilungsstadien beschrieben. Mit einer Teilung des Blepharoplasten haben alle derartigen Bilder nichts zu tun, wie cytologisch einwandfreie Präparate ohne weiteres erkennen lassen, auch wenn der (weiter unten zu beschreibende) wirkliche Verlauf der Teilung nicht klar nachweisbar wäre.

Gemeinsam ist allen Blepharoplasten von *Trypanoplasma helicis*, wie gestaltet sie auch sonst sein mögen, die sehr starke Färbbarkeit. Der Blepharoplast erscheint im Ruhezustand stets so dicht gebaut, daß eine Analyse seiner feineren Struktur bisher nicht möglich war. Nur eine recht feine Membran konnte (in Übereinstimmung mit der Annahme FRIEDRICH's) gelegentlich festgestellt werden.

In enger Beziehung zum Blepharoplasten steht auch bei den Trypanoplasmen der **Bewegungsapparat**. Die beiden Geißeln entspringen meist unmittelbar vor ihm aus zwei dicht nebeneinander gelegenen Basalkörnern. Mitunter freilich befindet sich zwischen den Basalkörnern (Fig. 1, 2, 5) oder zwischen Basalkörnern und Blepharoplast (Fig. 4, 11) ein größerer Zwischenraum, während in anderen Fällen wieder die einzelnen Elemente so dicht zusammenliegen, daß sie nur schwer oder gar nicht unterschieden werden können. Die beiden Basalkörner sind nicht selten durch eine Fibrille miteinander verbunden (Fig. 2), woraus zu schließen ist, daß sie durch Teilung eines ursprünglich einheitlichen Körpers entstehen. Durch abermalige Teilung werden alsdann von den Basalkörnern aus die Geißeln gebildet, also prinzipiell in der gleichen Weise wie dies für alle genauer untersuchten Flagellaten feststeht. Die „undulierende Membran“ kommt, wie schon FRIEDRICH erkannt hat, in etwas anderer Weise als bei den Trypanosomen zustande, indem die Fibrille (Randfaden) nicht im Innern unter dem Periplast fortwächst (SCHAUDINN, ROSENBUSCH), sondern sich von außen herumlegt,

um dann mit dem Körper zu verschmelzen. Demgemäß ist die Verbindung zwischen Fibrille und Körper eine weniger feste, woraus sich auch ihre eingangs erwähnte häufige Ablösung bei der Fixierung erklärt.

Während der Geißelapparat vorn am Blepharoplasten entspringt, ziehen nach hinten von ihm eine Anzahl Fibrillen, die offenbar bei der Bewegung und Formveränderung der Trypanoplasmen gleichfalls eine große Rolle spielen. Am häufigsten sieht man zwei starke Fibrillen, die in einiger Entfernung voneinander dicht unter dem Periplast durch einen großen Teil des Körpers hinziehen, um sich dann allmählich zu nähern und in ein stark färbbares Korn auszugehen. Mitunter kann man statt der zwei Fibrillen nur eine deutlich verfolgen (Fig. 1), während in anderen Fällen noch eine Anzahl erheblich schwächer entwickelter Fibrillen in der Mitte zwischen den beiden starken verläuft. Von welchem Teil des Blepharoplasten (Centriol?) die Fibrillen ausgehen, konnte nicht genau festgestellt werden, da sich ja der feinere Bau desselben noch unserer Kenntnis entzieht. Es erscheint sogar nicht ausgeschlossen, daß in den Fällen, wo der Blepharoplast „Tabakpfeifengestalt" besitzt (Fig. 1), nur das dicke vordere Ende den eigentlichen Blepharoplasten (Kinetonucleus) vorstellt, während der schmale hintere Teil schon von den verklumpten Fibrillen gebildet wird. Ganz sicher aber gehen diese vom Blepharoplasten aus und nicht von den Basalkörnern, wie Keysselitz für *Trypanoplasma borreli* angibt.

Der Fibrillenapparat kann nun mancherlei Verwechslungen veranlassen: Bei nicht genügender Differenzierung oder gar auf Trockenpräparaten lassen sich seine einzelnen Komponenten besonders gegen das hintere Ende zu, wo sie sich ja nähern, nicht auseinanderhalten, sondern erscheinen als stark gefärbter einheitlicher Körper von ungefähr Blepharoplastgröße. Bleiben nun noch die Fibrillen, wie es häufig geschieht, in der Nähe des Blepharoplasten einzeln erkennbar oder zerreißen sie gar beim Antrocknen der Präparate, so wird das Bild einer Blepharoplastteilung sehr leicht vorgetäuscht. Fig. 1—3 zeigen uns aber den wahren Sachverhalt (bei Fig. 4 allein könnte man schon im Zweifel sein) auch ohne Kenntnis der sogleich zu beschreibenden wirklichen Teilungsstadien. Es sei auch darauf hingewiesen, daß manche der von Keyssflitz (nach Trockenpräparaten!) beschriebenen und abgebildeten „Verschmelzungsstadien der Blepharoplasten nach der Copulation" derartigen von mir vielfach beobachteten Verklumpungen des hinteren Teiles des Fibrillen-

apparates im höchsten Maße ähneln und somit vermutlich eine viel einfachere Deutung verlangen.

Andere Irrtümer können dadurch hervorgerufen werden, daß die Fibrillen während oder kurz vor der Teilung des Blepharoplasten in der Regel allmählich zugrunde gehen. Zeitweise finden sich hierbei, besonders in der Nähe des Blepharoplasten, an „Chromidien" erinnernde Bilder.

Ebenso wie der Bau, so ähnelt auch die Vermehrung der Trypanoplasmen der der Trypanosomen sehr. Kern und Blepharoplast teilen sich auch bei ihnen mitotisch.

Am Kern sind die einzelnen Phasen der Teilung recht klar zu verfolgen: Zunächst teilt sich das Centriol, und die Tochtercentriole rücken weit auseinander, während die Masse der chromatischen Substanz zwischen ihnen zunächst noch ziemlich unverändert liegen bleibt. [Derartige Stadien (Fig. 4) zeigen klar, daß die Kern-(oder Caryosom-)teilung nicht auf einer einfachen auseinanderstemmenden Wirkung der Centriole beruhen kann, eine Annahme, zu der man durch viele der sonst bekannten Kernteilungsbilder bei Protozoen verführt werden könnte.] Erst später bildet sich eine richtige „Äquatorialplatte" aus (Fig. 5—7), deren einzelne Elemente freilich wegen ihrer geringen Größe und dichten Anordnung nicht deutlich auseinander zu halten sind. Auch das sich nunmehr anschließende Stadium der beiden „Tochterplatten" war einmal zu beobachten, ganz wie bei den Trypanosomen (Rosenbusch) ist es aber offenbar nur von sehr kurzer Dauer. Die chromatische Substanz wandert alsdann zu den beiden Polen, an denen je ein kompakter Körper — die Caryosome der neuen Kerne — gebildet wird, die zunächst noch durch eine hellere Zone verbunden bleiben (Fig. 8, 9).

Beobachter, denen nur diese Endphasen vorliegen, können dann wie bei den Trypanosomen (Moore u. Breinl) fälschlich zur Annahme eines einfacheren Teilungsmodus verleitet werden. Zum Teil erklären sich vielleicht hieraus die Angaben Friedrich's über amitotische Kernteilung, hauptsächlich aber sind sie wohl ebenso wie seine Beschreibung der Kernstruktur auf unzureichende Fixierung und Färbung zurückzuführen, wie auch aus den wenigen von ihm abgebildeten „mitosenartigen" Stadien hervorgeht, mit denen er nicht viel anzufangen weiß.

Das weitere Auseinanderrücken und die Abgrenzung der beiden Tochterkerne bietet nichts Bemerkenswertes, dagegen ist noch nachzuholen, daß die alte Kernmembran während der Spindelbildung (Fig. 4—6), häufig sogar bis zu den spätesten Stadien der Teilung

(Fig. 9) erhalten bleibt. Ferner sei darauf hingewiesen, daß auch bei *Trypanoplasma helicis* das Centriol vor Ablauf der Kernteilung sich wiederum teilen kann (Fig. 7), ein Verhalten, wie es bei Protozoen bereits für Trypanosomen (ROSENBUSCH) und Gymnodinium (JOLLOS) angegeben worden ist.

Die Teilung des Blepharoplasten erfolgt bald vor, bald nach der des Kernes und, wie erwähnt, gleichfalls auf mitotische Weise; klare Bilder der verschiedenen Stadien sieht man allerdings erheblich seltener. Die Spindeln (Fig. 10—13) ähneln denen bei der Kernteilung sehr und gelangen auch beim Blepharoplasten noch innerhalb der alten Membran zur Ausbildung; auch hier kommt es schließlich vor der Trennung der beiden Hälften zu Phasen, die an Amitose oder richtiger „Promitose" erinnern (Fig. 13).

Die Vermehrung des Blepharoplasten ist also eine Querteilung auf mitotischem Wege. Andere Vermehrungsmodi konnten ebensowenig wie beim Kern festgestellt werden. Auf die Verwechslungen, die sich aus der Form des Blepharoplasten (FRIEDRICH) oder durch unzureichende Differenzierung des Fibrillenapparates ergeben können, wurde bereits hingewiesen, es soll damit aber natürlich nicht die Möglichkeit eines weiten Auseinanderrückens der beiden Teilungshälften des Blepharoplasten vor ihrer endgültigen Trennung bestritten werden.

Das Vorkommen einer „Längsspaltung" des Blepharoplasten (neben der Querteilung) ist dagegen nach den hier mitgeteilten Beobachtungen recht unwahrscheinlich. Die hierauf bezüglichen Angaben FRIEDRICH's verlangen wie gesagt eine andere Deutung, und auch die nach Trockenpräparaten wiedergegebenen Bilder von KEYSSELITZ (für *Trypanoplasma borreli*) sind keineswegs beweiskräftig.

Während oder schon kurz vor der Teilung des Blepharoplasten gehen die Fibrillen und häufig auch die Geißeln zugrunde, um alsbald nach der Abgrenzung der neuen Blepharoplasten oder erst nach Durchschnürung der Zelle von neuem gebildet zu werden.

Die Durchschnürung der Zelle erfolgt sehr schnell nach der Vollendung von Kern- und Blepharoplastteilung, und zwar wie bei allen Flagellaten (Euflagellaten) der Länge nach. Fig. 14 zeigt, daß es hierbei ganz wie bei den Trypanosomen zu einem Auseinanderklappen der Tochterindividuen und Ausziehen der Verbindungsbrücke, also zu einer scheinbaren „Querteilung" kommen kann.

Im Bau wie in der Vermehrung zeigt sich also, wie wir gesehen haben, auf Schritt und Tritt die große Übereinstimmung zwischen

Trypanoplasmen und Trypanosomen. Vor allem steht nunmehr auch für die Trypanoplasmen die Kernnatur des Blepharoplasten fest. Hinsichtlich ihrer systematischen Stellung sei auf die zusammenfassende Arbeit von Hartmann u. Jollos im 19. Bande dieser Zeitschrift verwiesen, ihre Entwicklung soll in einer späteren Mitteilung behandelt werden.

Literaturverzeichnis.

Friedrich, L. (1909): Über Bau und Naturgeschichte des Trypanoplasma helicis Leidy. Arch. f. Protistenk. Bd. 14.

Hartmann, M. u. Jollos, V. (1910): Die Flagellatenordnung „Binucleata". Arch. f. Protistenk. Bd. 19.

Hartmann, M. u. Chagas, C. (1910): Flagellatenstudien. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Bd. 2.

Keysselitz, G. (1906): Generations- und Wirtswechsel von Trypanoplasma borreli Laveran u. Mesnil. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

Prowazek, S. v. (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. I. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 22.

Rosenbusch, J. (1909): Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

Salvin-Moore, J. E. and Breinl, A. (1907): The Cytology of the Trypanosomes. Ann. of trop. med. and parasit. Vol. 1.

Schaudinn, F. (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 20.

Tafelerklärung.

Tafel VI.

Sämtliche Figuren sind mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates in Höhe des Objekttisches nach gefärbten Präparaten entworfen. Vergr.: Zeiss Apochrom. Immersion 2 mm u. Comp. Oc. 18. Tubuslänge 160 mm.

Fig. 1—3. Verschiedene Formen mit deutlichen Fibrillen.

Fig. 2 zeigt das Centriol im Caryosom des Hauptkernes.

Fig. 4—9. Kernteilung.

- Fig. 4. Anfangsstadium der Mitose.
- Fig. 7. Doppelteilung des Centriols.
- Fig. 8 u. 9. Endstadien der Kernmitose.

Fig. 10—13. Blepharoplastteilung.

Fig. 14. Endstadium der Zellteilung.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.
Laboratorium M. Hartmann.)

Prowazekia parva n. sp., eine weitere freilebende Binucleatenform.

Von
Dr. **Kurt Nägler.**

(Hierzu Tafel VII.)

In Kulturen, die in bereits beschriebener und wiederholt erprobter Weise nach Frosch auf Agarplatten angelegt wurden (Nägler 1909, Berliner 1909, Hartmann u. Chagas 1910, Swellengrebel 1910), traten zahlreiche kleine Flagellaten auf durch Ausstrich von an großen Steinen haftenden, detritushaltigen Überzügen. Das Material zur vorliegenden Untersuchung stammt aus Lunz (Biol. Station) und wurde mir in liebenswürdiger Weise durch Herrn Dr. Ruttner übersandt zwecks Bearbeitung der Chromomonadine *Hydrurus*, von der in einer späteren Arbeit die Rede sein soll.

Obige Flagellaten gehören auf Grund ihrer Doppelkernigkeit zu dem von Hartmann u. Chagas 1910 aufgestellten Genus *Prowazekia.* Doch unterscheiden sie sich in mehreren Punkten von der beschriebenen Art *Pr. cruzi*, so daß die Aufstellung einer neuen Art *Pr. parva* geboten erscheint.

Was zunächst die äußere Morphologie der neuen Art anbetrifft, so ist sie etwas kleiner als die *Pr. cruzi.* Die Größe der *Pr. parva* beträgt nur ca. 5—8 μ, während *Pr. cruzi* 8—12 μ groß ist. Auch hinsichtlich der Gestalt ist die neue Form von der *Pr. cruzi* verschieden; sie ist nämlich nicht durchweg „oval oder birnförmig“

(Fig. 1, 6–8), sondern mehr länglich (Fig. 2, 4, 9, 10). Ferner ist sie nicht von einem festen Periplast umgeben, sondern mehr labil in ihrer Form und relativ metabol (Fig. 3, 6, 11—13). Es finden sich längsgestreckte Formen, oft mit ausgezogenem Hinterende, neben breiteren und hinten abgerundeten. Das Plasma ist wie bei *Pr. cruzi* beschaffen.

Von den zwei Kernen liegt der Blepharoplast oder Kinetonucleus sehr nahe dem Vorderende, meist dicht an der Oberfläche, der Hauptkern in der Mitte oder im hinteren Drittel etwas seitlich.

Der Hauptkern ist wie bei *Pr. cruzi* bläschenförmig gebaut mit großem Caryosom und relativ breiter Kernsaftzone und dünner Kernmembran. Außenchromatin ist nicht vorhanden. Ein Centriol und dessen Teilung konnte bisher bei *Pr. parva* infolge der Kleinheit des Objekts nicht wahrgenommen werden, während es bei der größeren Art von HARTMANN u. CHAGAS beschrieben worden ist.

Der Geißelkern oder Kinetonucleus ist entsprechend dem von *Pr. cruzi* auch bei *Pr. parva* von einer nur schmalen Kernsaftzone umgeben, die oft ganz zurücktritt. Sein Caryosom ist fast noch einmal so groß wie das des Hauptkernes und meist nicht rund, sondern gestreckt resp. „phiolenartig“ wie bei *Pr. cruzi*. An der Kernnatur dieses Gebildes dürfte nicht zu zweifeln sein, einmal nach der unten zu beschreibenden Teilung (Fig. 6 u. 13) und ferner auf Grund seiner nach GIEMSA tief dunkel blauroten Färbung. Auf die Übereinstimmung des Kinetonucleus bei *Prowazekia* mit dem Kinetonucleus bei Trypanoplasmen haben schon HARTMANN u. CHAGAS hingewiesen.

Die beiden Geißeln sind an zwei Basalkörnern inseriert, die oft durch den darüber gelegenen Kinetonucleus verdeckt werden, auch wohl so nahe aneinanderliegen können, daß der Eindruck eines einzigen Basalkornes entsteht. Die Basalkörner oder Diplosomen sind mit dem Kinetonucleus durch eine feine Fibrille (Rhizoplast) verbunden und liegen hart am Rande des Plasmas. Weitere Einzelheiten sind nicht wahrzunehmen. Von den beiden Geißeln ist eine nach vorn gerichtet und meist immer sichtbar, während die zweite, nach hinten verlaufende direkt am Protoplasmakörper entlang laufen kann, so daß sie schwerer sichtbar ist, weil sie oft auch verdeckt wird (Fig. 3 u. 5).

Die *Pr. parva* scheint auf Grund der nahe dem Plasmakörper hinlaufenden Schleppgeißel und der ganz am Rande liegenden Basalkörner dem *Trypanoplasma helicis* (HARTMANN u. JOLLOS 1910) noch näher zu stehen als *Pr. cruzi*, wenngleich es auch zu keiner Ver-

schmelzung der Schleppgeißel mit dem Plasmakörper kommt. Immerhin bildet *Pr. parva* hierdurch eine interessante Zwischenstufe zu den *Trypanoplasma*-Formen.

Die Zweiteilung von *Pr. parva* verläuft in der Weise, daß sich teils der Kinetonucleus zuerst teilen kann, teils der Hauptkern, ähnlich wie bei *Pr. cruzi.* In den Einzelheiten der Teilungsstadien bestehen allerdings Unterschiede zwischen beiden Arten, da bei *Pr. parva* ein ganz primitiver Kernteilungsmodus vorliegt ohne das deutliche Auftreten einer Äquatorialplatte mit zwei großen Chromatinkugeln.

Die Teilung des Hauptkernes verläuft in ihren schwer wahrnehmbaren Einzelheiten folgendermaßen. Es tritt wie in Fig. 5 ein Stadium auf, das man noch einigermaßen als eine Spindel mit Äquatorialplatte deuten kann, mit verdickten Polenden (Centriolen), im Hinblick auf die Abbildungen von Jollos (1910) bei *Trypanoplasma helicis.* Doch muß infolge der Kleinheit der Strukturen, die an der Grenze der Sichtbarkeit stehen, unser Erkennen hier Halt machen. Dagegen trifft man häufig Bilder, wie Fig. 9—11, wo eine einfache Durchschnürung des Kernes als Promitose (Nägler 1909) vorliegt. In Fig. 10 ist eine Zentralspindel zu erkennen, in Fig. 11 verbindet ein breites helleres Band die Polklappen und in den Fig. 9, 12 u. 14 sind die Tochterkerne bereits getrennt, können aber auch noch durch einen langen Verbindungsfaden (Centrodesmose) zusammenhängen (siehe Fig. 13). Es scheint, als ob gegen Ende der Hauptkernteilung die Tochtercaryosome sich mehr reduziert haben, was auf zyklische Veränderungen am Caryosom hindeutet, wie es ja neuerdings in so vielen Fällen (Hartmann u. Prowazek 1907, Nägler 1909, siehe Zusammenstellung p. 39 ff., Hartmann 1910) beschrieben worden ist. In den Cysten, auf die ich hier gleich zu sprechen kommen möchte, liegen die Verhältnisse umgekehrt, indem hier eine Größenzunahme des Caryosoms beim Hauptkern wie beim Kinetonucleus unverkennbar ist.

Hartmann u. Chagas bilden in ihren Fig. 72 u. 73 Kernteilungsstadien ab, die sie als einen verkürzten Kernteilungsmodus ansprechen. Ob es sich auch in obigem Falle um einen solchen handelt, läßt sich vorderhand nicht entscheiden, doch wäre bei unserer jetzigen Kenntnis mehrerer Fälle (Vahlkampf 1904, Löwenthal 1903, Prowazek 1905, Haase 1910, Nägler 1909, Aragão 1909) diese Annahme nicht von der Hand zu weisen. Doch bedarf es zur Entscheidung dieser Fragen eines günstigeren Objektes.

Der Kinetonucleus teilt sich ähnlich wie der Hauptkern, worauf Fig. 6 hindeutet, indem auch hier eine Centrodesmose zu erkennen ist. Das Basalkorn ist durch eine feine Fibrille mit der einen Hälfte des in Teilung befindlichen Caryosoms verbunden. Stadien mit doppeltem Kinetonucleus trifft man häufig (Fig. 8—10), während der Hauptkern noch ungeteilt oder gerade in Teilung begriffen ist. In den Fig. 13—15 sind beide Kerne bereits geteilt und man erkennt die Stadien der Längsteilung des Flagellatenkörpers. Auch beim Kinetonucleus der *Pr. parva* liegt also ein primitiverer Kernteilungsmodus vor wie bei *Pr. cruzi* und den verwandten Trypanoplasmen und Trypanosomen, deren Blepharoplastteilung kürzlich Rosenbusch (1909), Chagas (1909) bei *Schizotrypanum cruzi* und Jollos (1910) bei *Trypanoplasma helicis* als regelrechte Mitose feststellen konnten.

Während das alte Basalkorn bei der Teilung erhalten bleibt, wird von dem abgeschnürten Caryosom des Kinetonucleus aus ein neues gebildet, oft schon auf einem frühen Stadium, während der Hauptkern noch vollkommen ungeteilt ist, andererseits ist es aber auf fortgeschrittenen Zellteilungsstadien noch nicht zur Ausbildung gelangt (Fig. 13—15). Also auch hier herrschen variable Verhältnisse.

Die Entstehung der Geißeln erfolgt vom neugebildeten Basalkorn aus. Auf den Präparaten sind sie meist nach starker Differenzierung nicht zu sehen, in Fig. 8 z. B. dagegen schon ausgebildet. Die Zellteilung verläuft als Längsteilung von vorn nach hinten.

Nach einiger Zeit der vegetativen Zweiteilung erfolgt auf den Agarplatten die Encystierung. Über die Kernverhältnisse wurde oben bereits gesprochen. Im Gegensatz zu *Pr. cruzi* konnte bei *Pr. parva* das Erhaltenbleiben der Geißeln in den Cysten nicht beobachtet werden, wenn auch manchmal Andeutungen vorlagen.

Auch bei *Pr. parva* enthalten mehrere abgerundete Formen, die wohl als Cysten anzusehen sind, runde kernartige Gebilde, die meinem Dafürhalten nach mit Kernstadien und einer eventuellen Schizogonie durchaus nichts zu tun haben, sondern Einschlüsse parasitärer Natur sind, wie sie neuerdings von Nägler (1910) bei Amöben beschrieben worden sind.

Ich möchte nicht verfehlen, an dieser Stelle nochmals die Wichtigkeit der Aufstellung der Ordnung „Binucleata" durch Hartmann (1907) zu betonen. Geht doch gerade aus obigen Studien wiederum hervor, welche Stützen einer Lehre oft schnell hintereinander erwachsen können! Und gerade für eine phylogenetische Betrachtung,

die uns der Entwicklungsgedanke immer wieder nahelegt, hat sich die Aufstellung der Binucleaten äußerst fruchtbar erwiesen, in dieser Untersuchung für die Wurzel des Binucleatenstammes, in weiteren Arbeiten von Mesnil u. Brimont (1908) und Chagas (1909) und ferner durch im Druck sich befindende Arbeiten von Jollos bei *Trypanoplasma* und von Seitz bei *Proteosoma* und *Lankesterella*. Ein Widerspruch gegen die Einheitlichkeit obiger Ordnung und ihre phylogenetische Entwicklungsreihe im großen und ganzen setzt also bei den sich mehrenden Bestätigungen eine gewisse Kurzsichtigkeit voraus.

Literaturverzeichnis.

Aragão, H. de Beaurepaire (1909): Sobre a Amoeba diplomitotica n. sp. Mem. do Inst. Osw. Cruz. Rio de Janeiro, Manguinhos, Vol. 1 p. 33.

Berliner, E. (1909): Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 298—325.

Chagas, E. (1909): Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Studien über Morphologie und Entwicklungscyclus des Schizotrypanum cruzi. Mem. do Inst. Osw. Cruz. Rio de Janeiro, Manguinhos, Vol. 1 p. 1—62.

Hartmann, M. (1907): Das System der Protozoen, zugleich vorläufige Mitteilung über Proteosoma. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

— (1910): Über eine neue Darmamöbe Entamoeba testudinis n. sp. Mem. do Inst. Osw. Crux. Rio de Janeiro Vol. 2 p. 1—10.

Hartmann, M. u. Prowazek, S. v. (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 306.

Hartmann, M. u. Chagas, C. (1910): Flagellatenstudien. Mem. do Inst. Osw. Cruz. Rio de Janeiro, Manguinhos, Vol. 2 p. 64—125.

Hartmann, M. u. Jollos, V. (1910): Die Flagellatenordnung „Binucleata". Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 81—106.

Haase, G. (1910): Studien über Euglena sanguinea. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Jollos, V. (1910): Studien über Trypanoplasma helicis. Arch. f. Protistenk. Bd. 21.

Mesnil, F. et Brimont (1908): Sur un hématozoaire nouveau (Endotrypanum n. g.) d'un édenté de Guyane. C. R. Soc. Biol. Bd. 65 p. 587.

Nägler, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 1—53.

— (1910): Fakultativ parasitische Micrococcen in Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 246—254.

Prowazek, S. v. (1905): Über den Erreger der Kohlhernie Plasmodiophora brassicae. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 22.

Rosenbusch, F. (1909): Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 263—296.

Swellengrebel, N. H. (1910): Notiz über eine neue freilebende Amöbe Amoeba salteti n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 167—177.

VAHLKAMPF, E. (1904): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax, einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

Tafelerklärung.

Tafel VII.

Sämtliche Figuren sind bei ZEISS Imm. 0,2 mm und dem Comp.-Oc. 12 oder 18 mit dem ABBE'schen Zeichenapparat entworfen. Die Vergrößerung ist ca. 2250 fach. Die Figuren sind nach mit FLEMMING'scher Flüssigkeit fixierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Deckglasausstrichen gezeichnet.

Fig. 1—18. *Prowazekia parva* n. sp.

Fig. 1—4. Typische Formen der neuen Art.

Fig. 5. Hauptkern in Teilung begriffen; Schleppgeißel nahe am Plasmakörper hinlaufend.

Fig. 6. Kinetonucleus in Promitose.

Fig. 7—9. Individuen mit doppeltem Kinetonucleus.

Fig. 9—15. Teilungsstadien, teils des Hauptkerns, teils des Kinetonucleus.

Fig. 14 u. 15. Längsteilung.

Fig. 16 u. 17. Normale Cysten.

Fig. 18. Cyste mit Parasiten.

(Aus dem Zootomischen Institut der Kaiserl. Universität
zu St. Petersburg.)

Zur Organisation von *Tocophrya quadripartita* Cl.-L.

Von

J. Filipjev.

(Hierzu Tafel VIII und 1 Textfigur.)

Im Herbst des Jahres 1909 lenkte Herr Professor Schewiakoff meine Aufmerksamkeit auf die Acinete *Tocophrya quadripartita*, welche damals eben in einem der Universität gehörigen Teiche auf Schnecken gefunden worden war, als auf ein interessantes Objekt zu Studien; dabei riet er mir namentlich die feineren Vorgänge bei dem Prozeß des Saugens im Auge zu behalten. Alle meine Studien über dieses Thema habe ich im Herbst des Jahres 1909 und im Frühjahr des Jahres 1910 im Zootomischen Institut der St. Petersburger Universität angestellt. Ich halte es für meine angenehme Pflicht, Herrn Professor Schewiakoff auch an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank für die stets liebenswürdige Anleitung bei meinen Arbeiten, sowie für die wertvollen Ratschläge auszusprechen, welche er mir während derselben erteilt hat. Ich benutze die Gelegenheit, auch Herrn M. N. Rimsky-Korsakoff meinen Dank auszudrücken, welcher mir ein ständiger Leiter bei meinen Studien gewesen ist.

T. quadripartita ist erstmals von Stein (1854) beschrieben und abgebildet worden, welcher dieselbe für das Acinetenstadium von *Epistylis plicatilis* hielt, an deren Stiele sie befestigt ist. Claparède-Lachmann (1859) haben in dem ersten Bande ihres Werkes die

Diagnose und den Speciesnamen dieser Form, *Podophrya quadripartita* veröffentlicht. In dem zweiten Bande (1861) teilen diese Autoren viele Einzelheiten über den Bau und die Fortpflanzung dieser Art mit. Eine Reihe weiterer Beobachtungen wird von Stein (1867) vermerkt, welcher diese Art *Acineta quadripartita* nennt. Bütschli (1876) beschrieb ausführlich die Bildung des Embryos im Innern von *P. quadripartita* und teilte einige Beobachtungen über die Morphologie derselben mit. Wrzesniowski (1877) fügt den bisherigen Mitteilungen fast nichts neues hinzu. Köppen (1888) beschreibt den Bau und die Fortpflanzung dieser Art ziemlich genau, gibt aber keine Abbildungen. Seine in russischer Sprache geschriebene Arbeit ist den nachfolgenden Autoren leider gänzlich unbekannt geblieben, namentlich derjenige Teil derselben, in welchem sich der Autor mit *T. quadripartita* befaßt. Bütschli (1889) scheidet *Pod. quadripartita* mit vielen anderen Arten in eine neue Gattung aus, der er den Namen *Tocophrya* gibt und welche sich von *Podophrya* durch die im Innern befindlichen Embryonen unterscheidet. Nach Köppen hat sich nur noch Sand (1896) mit dieser Art beschäftigt, ohne aber neue Beobachtungen mitzuteilen.

Material und Methoden.

Mein gesamtes Material erhielt ich aus dem Teich im botanischen Garten der St. Petersburger Universität. Die in diesem Teich erbeuteten Schnecken (*Limnaeus*, *Paludina*, *Planorbis*) sind häufig mit einem weißen, an Schimmel erinnernden Belag bedeckt. Unter dem Mikroskop betrachtet, erweist es sich, daß dieser Schimmel aus Kolonien von *Epistylis plicatilis* besteht, an deren Stielen Individuen von *Tocophrya quadripartita* befestigt sind. Die Zahl dieser letzteren ist bisweilen groß, bisweilen geringer. Die Schnecken hielt ich in Aquarien, wobei ich die größeren Exemplare durch Glasscheiben abtrennte, so daß die Tiere voneinander isoliert wurden. Dieses Isolieren ist unbedingt notwendig, weil sonst alle Schnecken nach 2—3 Tagen durch die Radulae ihrer Mitbewohner glatt poliert, d. h. ihres Belages beraubt erscheinen.

Was die von mir angewandten Untersuchungsmethoden betrifft, so war ich vor allem bemüht, möglichst viele Beobachtungen am lebenden Objekt anzustellen. Fast alle von mir erzielten Resultate in bezug auf die Fortpflanzung und Befestigungsweise sind auf

diese Weise erhalten worden. Die Färbung intra vitam erwies sich als äußerst zweckentsprechend bei dem Studium des Saugens dieser Infusorien. Die Paramäcien, mit denen ich meine *Tocophrya* fütterte, wurden von Neutralrot lange nicht so intensiv gefärbt, wie diese letzteren. Auch innerhalb des *Tocophrya*-Körpers nimmt ihr Plasma nicht bald die rote Färbung an, so daß die Verwandlungen des Infusorplasmas im Innern des *Tocophrya*-Körpers leicht beobachtet werden können. Durch Methylenblau und Bismarckbraun wurde *Tocophrya* bei weitem nicht so intensiv gefärbt wie durch Neutralrot, so daß letzteres allein zu Fütterungsstudien verwendet wurde.

Zur Anfertigung von Totalpräparaten verwendete ich Alaunkarmin, Boraxkarmin und DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Letzteres Färbemittel ergab die besten Resultate, besonders bei nachfolgender Differenzierung mit angesäuertem Alkohol und Neutralisierung der Säure durch ammoniakalischen Alkohol. Als fixierende Flüssigkeit bei der Anfertigung von Schnitten verwendete ich hauptsächlich FLEMMING'sches Gemisch, welches in starker Konzentration die besten Resultate ergab. Ganz besondere Sorgfalt war auf die Überführung in starken Alkohol zu verwenden, indem anderenfalls das Plasma zusammengepreßt wurde und sich ganz an die Zellwandungen zurückzog. Solche Lakunen, wenn auch von geringer Größe, traten sogar bei sehr vorsichtiger und allmählicher Überführung in Alkohol von höherer Stärke ein. Zur Färbung verwendete ich HEIDENHAIN-sches Eisenhämatoxylin, welches die ganze Zeit über ausgezeichnete Resultate ergab. In Anbetracht der geringen Größe des Objektes versuchte ich die Infusorien in toto zu färben, darauf einzubetten und dann auf dem Objektträger zu differenzieren. Diese Methode ergab ausgezeichnete Resultate, welche nicht hinter denen der Färbung auf dem Objektträger zurückstanden, wobei sie noch den Vorzug aufwies, daß die Infusorien im Paraffin besser sichtbar wurden, und daß auf den Gläsern nicht jener Niederschlag entstand, wie er bei der Färbung auf dem Objektträger der Betrachtung des Präparates so hinderlich wird.

I. Morphologisches.

1. Allgemeiner Bau. Der Körper von *Tocophrya quadripartita* hat das Aussehen einer vierkantigen Pyramide, deren Spitze sich in einen Stiel fortsetzt, die Basis dagegen frei endet (Fig. 1). An der freien Basis erheben sich an den Ecken vier halbkugelige Höckerchen, aus deren Zentrum Büschel von Tentakeln in Gestalt

zahlreicher Fäden von verschiedener Länge auslaufen. Contractile Vacuolen sind drei vorhanden, wobei zwei derselben vorn zwischen den Tasterbündeln, die dritte dagegen in der Mitte des Körpers in einer zu der Verbindungslinie beider Vacuolen senkrechten Fläche gelegen ist. Der Kern liegt in der Mitte des Körpers und besitzt eine runde oder zugespitzte Gestalt. Von allen weiteren Details wird weiter unten die Rede sein.

2. Feinere Struktur. Protoplasma. Das Ectoplasma besteht aus 1) der Pellicula, 2) einer Alveolarschicht und 3) dem Corticalplasma. Die Pellicula erscheint bei oberflächlicher Betrachtung des Infusors dick, allein auf Schnitten gelingt es nachzuweisen, daß ihre Dicke nur 0,2 $\mu\mu$ beträgt. Die Pellicula ist stark lichtbrechend und vollständig glatt; die von Sand beschriebenen „perles“ habe ich niemals gefunden. Sie umhüllt die gesamte Oberfläche des Suctorienkörpers und setzt sich auch auf die Tentakel fort, wobei sie nur an deren Enden unterbrochen ist. Unter der Pellicula befindet sich eine Schicht von corticalem Plasma mit einer deutlich alveolären Schicht dicht unter der Pellicula. Diese Schicht ist ganz besonders deutlich zu sehen, wenn man das Infusor durch Druck auf das Deckglas leicht preßt, indem sonst die Krümmungen und Unebenheiten der Pellicula das Studium derselben einigermaßen erschweren. Von der darauffolgenden Schicht, dem Entoplasma, unterscheidet sich die Corticalschicht durch das Fehlen von Einschlüssen und ihre etwas dunklere Farbe. Das Entoplasma besitzt eine alveoläre Struktur und enthält Einschlüsse von zweierlei Art: 1. verschiedenartige Nahrungskörper, von denen weiter unten die Rede sein wird, und 2. Excretkörper. Diese Körperchen sind durchaus nicht bei allen Exemplaren vorhanden. Man kann dieselben hauptsächlich beim Hungern der Tiere beobachten, wenn alle oder doch fast alle Nahrungskörper verschwinden. Sie haben eine unregelmäßige Gestalt und sind doppelt lichtbrechend.

Contractile Vacuolen. Es sind ihrer, wie schon Bütschli (76) angegeben hat, stets drei vorhanden: zwei liegen in der zwischen den Tentakelbündeln verlaufenden Fläche, die dritte in einer vertikal zu ihnen gerichteten Fläche, in der Mitte des Körpers. Sie sind mit einem ausführenden Kanälchen versehen, welches durch eine einfache Einsenkung der Pellicula gebildet wird, wie dieses für viele Suctoria charakteristisch ist. Bei der Entleerung wird die Vacuole gleichsam durch das heranströmende Protoplasma ausgequetscht, so daß ihre letzten Reste im optischen Schnitt ein sichel-

förmiges Aussehen haben. Bei der Neubildung der Vacuole verschmilzt dieselbe aus 3—5 Bildungsvacuolen. Mehrere Male beobachtete ich, wie die Vacuole auf einem besonderen Vorsprung des Körpers zwischen den Tentakeln lag.

Der Stiel hat die allerverschiedenste Länge. Seine mittlere Größe übertrifft die Körperlänge um das Doppelte (etwa 150 μ). Bei oberflächlicher Betrachtung erscheint er längsgestreift, bei genauem Studium dagegen, sowie auf Schnitten erweist es sich, daß er aus dicken Fibrillen von etwa 1.5 μ Durchmesser besteht; diese Fibrillen sind mit einer besonderen Substanz untereinander verklebt. Sie verlaufen parallel, und nur an beiden Enden des Stieles bemerkt man eine gewisse Besonderheit in ihrem Verlauf. An der Verbindungsstelle von Stiel und Körper werden die Fibrillen etwas dicker und divergieren einigermaßen, wobei sie rosettenartig in kleine Keulen auslaufen (Fig. 4d). Auch 'an der Basis des Stieles treten meistens einige Unregelmäßigkeiten im Verlaufe der Fibrillen auf, diese letzteren erleiden Drehungen, treten bisweilen etwas auseinander und schließen sich der Basalplatte an, welche den Stiel von *Epistylis* gewöhnlich umhüllt (Fig. 22 *B.pl.*). Das Verhalten dieser Platte zu den Farbstoffen ist ein anderes: durch Boraxkarmin wird sie intensiv gefärbt, der Stiel dagegen schwächer. Bei der Färbung mit Boraxkarmin und Bleu de Lyon erscheint der Stiel blau, die Platte dagegen rot. Diese Beobachtungen sind zum größten Teil bereits von Köppen und Sand (1896) vermerkt worden. Sand (1901) vermutet außerdem noch, daß alle Füße quergestreift sein müssen. Diese Vermutung wird durch das Verhalten bei *T. quadripartita* in keiner Weise gerechtfertigt.

Die Tentakel von *T. quadripartita* sind in 4 Bündeln auf den 4 Vorsprüngen am Vorderende des Körpers angeordnet: ihre Zahl beträgt bei einem völlig entwickelten Individuum 20—30 an jedem Vorsprung. Eine regelmäßige Anordnung derselben längs einer Spirale, wie sie bei einigen anderen Suctorien beobachtet wurde, habe ich hier nicht bemerkt. Die Länge der Tentakel ist eine verschiedene: im allgemeinen bilden sie mit ihren Gipfeln zwei konzentrische Zonen um den sie tragenden Vorsprung, von denen die eine etwa 100 μ, die andere 40—50 μ im Durchmesser hat (Fig. 1). Die dritte von Sand (1896) beobachtete Zone habe ich nicht unterscheiden können. Die Funktion des Greifens scheint offenbar auf die Tentakel der äußeren Zone beschränkt zu sein, während die Funktion des Saugens beiden Zonen eigentümlich ist. Außer der Länge besteht kein anderer Unterschied zwischen den Tentakeln beider Zonen.

Was nun den feineren Bau der Tentakel betrifft, so kann man drei Elemente in denselben erkennen: 1. eine Pellicula, 2. eine Schicht kontraktilen Protoplasmas und 3. einen Zentralkanal. Die Pellicula bildet eine unmittelbare Fortsetzung der Pellicula des Körpers, wie dies schon Bütschli (1889) vermutet hatte, und dringt nicht durch letztere hindurch, wie wir dies bei *Ephelota* kennen gelernt haben (nach Hertwig, Ishikawa; Collin vermutet, daß die Körperpellicula sich auf die innere Verlängerung des Tentakels umschlägt). Am Ende des Tentakels erfährt sie eine gewisse Erweiterung in Gestalt einer Röhre, wobei sie einen verdickten Rand bildet und das Ende des Tentakels offen läßt (Fig. 2 *er*). Dieser Rand ist elastisch, worauf ich durch Herrn Prof. Schewiakoff aufmerksam gemacht wurde, doch ist ein contractiles Element nicht vorhanden, und der Rand ist nur passiv elastisch. Wenn die Plasmakugel (von der weiter unten die Rede sein wird) nach außen tritt, dehnt sich der Ring aus; wenn das sich kontrahierende Plasma dieselbe nach innen zieht, zieht sich der Ring zusammen und schließt den Eingang in den Tentakel (Fig. 3). Bei der Kontraktion des Tentakels treten auf der Pellicula Falten auf, welche den Eindruck einer Spirale hervorrufen (Fig. 4). Maupas (1881) hielt dieselben für einen besonderen kontraktilen Faden, welchem die Kontraktion des Tentakels obliegt. Die Pellicula verhält sich den Kontraktionen des inneren Plasmas gegenüber passiv und steht manchmal sogar auf eine gewisse Strecke hin von demselben ab. Die „perles“ von Sand, durch welche dieser Autor die Spiralen auf den Tentakeln erklärte, fehlen hier, wie auch auf dem ganzen Körper.

Der innere Plasmastrang ist der kontraktile Teil des Tentakels und nimmt der Dicke nach den größten Teil desselben ein. Am Gipfel des Tentakels tritt er aus der Pellicula hervor und bildet eine nackte Plasmakugel (Fig. 2 *pk*), welche wahrscheinlich von klebriger Konsistenz ist, indem vorbeischwimmende Infusorien, wenn sie diese Kugel berühren, sofort an derselben kleben bleiben. Die kontraktile Rolle des Tentakelplasmas tritt recht überzeugend zutage, wenn man das Verhalten dieser Kugel, welche seine direkte Fortsetzung bildet, bei der Kontraktion beobachtet. Bevor die Kontraktion an irgendeiner anderen Stelle des Tentakels zum Ausdruck gelangt, wird die Kugel eingezogen, so daß sie bisweilen weit hinter das Ende der Pellicula zurücktritt. Die plasmatische Röhre wird von Heidenhain'schem Hämatoxylin dunkler gefärbt als das umgebende Plasma, aber doch bei weitem nicht so dunkel wie der Kern oder der Ernährungskörper (siehe unten). An der Basis des Tentakels

dringt diese Röhre durch das Plasma hindurch und verläuft in das Innere, wobei sie innere Fortsätze bildet, welche indessen nur sehr kurz sind, so daß nach KÖPPEN *T. quadripartita* dieser für die übrigen Suctoria so charakteristischen Fortsätze gänzlich entbehren sollte (Fig. 5). Diese Fortsätze enden im Zentrum einer Kugel, deren Radien durch die Tentakel gebildet werden, d. h. höchstens etwa 4—5 μ unterhalb der Fühlerbasis. Hier stoßen alle Endigungen zusammen und um ihre Basis herum ist eine Anhäufung dunklen, homogenen Plasmas zu bemerken (Fig. 5, 6 *dP*). Nur in zwei Fällen dringen sie tiefer ein, und zwar während des Saugens, wovon weiter unten die Rede sein wird, und nach dem Tode, wo sie tatsächlich bis zum Kern verlaufen und sich dort kreuzen.

Der Kanal verläuft der ganzen Länge des Tentakels nach und ist mit einer hellen Flüssigkeit erfüllt. An seinem Ende bildet er eine Erweiterung (Fig. 2, 3 *ik*). Eigene Wandungen besitzt der Kanal nicht. Alle diese Details waren schon von früheren Autoren, wenn auch an anderen Arten, beobachtet worden.

Kernapparat. Macronucleus. Letzterer besitzt eine sehr mannigfache Gestalt: die normale Gestalt, wie sie bei völlig erwachsenen und satten Individuen angetroffen wird, ist länglich, wobei das eine, gewöhnlich der Basis zugewandte Ende rund, das andere, nach vorn gerichtete Ende dagegen unregelmäßig verbreitert ist; an beiden Seiten dieses Endes finden sich zwei kleine Höcker und dazwischen eine Einsenkung. Indessen weisen durchaus nicht alle Individuen eine solche Gestalt des Kernes auf. Namentlich findet sich bei jungen und hungernden Individuen eine große Mannigfaltigkeit. Vor allem kann der Kern vollständig kugelförmig sein (Fig. 6), sodann spindelförmig (Fig. 9) und endlich an einem Ende zugespitzt, am anderen abgerundet (Fig. 9 *A*). Da alle diese Formen mit der Fortpflanzung zusammenhängen, sollen sie auch bei letzterer besprochen werden.

Die Struktur der Kerne setzte mich anfangs in großes Erstaunen. Es ist zwar eine alveoläre Struktur zu bemerken, aber dieselbe ist sehr eigenartig: das Innere der Alveolen ist von Chromatin erfüllt (diese Auffassung hatte auch MARTIN 1909); später jedoch gelang es mir mit der Beihilfe von Herrn Prof. SCHEWIAKOFF und dank den besseren optischen Hilfsmitteln (Apochr. Imm. 2 mm von ZEISS) diese Struktur etwas näher kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke erwiesen sich diejenigen Kerne am passendsten, welche an einem Ende zugespitzt sind (Fig. 9 *A*). Auf Schnitten durch solche Kerne, namentlich aber auf Längsschnitten, unterscheidet man folgendes:

Am zugespitzten Ende findet sich ein alveoläres Netz, allein ohne Chromatin, etwas weiter davon sieht man die für die Suctoria normalen „Binnenkörper", d. h. kleine Chromatinkügelchen, welche von einem hellen Raum umgeben sind; in dem übrigen größten Teil des Kernes endlich sind diese Kügelchen einander dicht genähert und nur durch die hellen Säume voneinander getrennt (Fig. 6, 7). Grenzen zwischen den hellen Säumen sind gar nicht zu sehen, so daß ich vermute, daß dieselben miteinander verschmelzen und eine homogene Masse entsteht, in welcher Chromatinkügelchen von verschiedener Größe eingeschlossen sind. Das Liningerüst ist hier bereits gänzlich verschwunden. In nicht zugespitzten Kernen ist der ganze Kern von solchen „Kernkörperchen" erfüllt, so daß die ursprüngliche Struktur hier gar nicht mehr zu sehen ist. Die alten Autoren, Sand, Köppen, Martin, Hickson (bei *Dendrosoma*) beschreiben die gleiche Struktur bei den verschiedensten Acineten, so daß man annehmen muß, daß dieselbe, wenn auch nicht für alle Acineten die gleiche, so doch jedenfalls in dieser Gruppe sehr verbreitet ist.

Allein bei der von Bütschli (1894) abgebildeten *Acineta sp.* ist die normale Struktur des Infusorienkernes angegeben. Auch bei *Dendrocometes* beschreibt Hickson (1902) eine der normalen nahe Struktur; jedoch seine Abbildungen sind durchaus nicht überzeugend, um so mehr, als Plate (1886) in dem Kern von *Dendrocometes* „Binnenkörper" angibt, von denen der Kern bisweilen ganz angefüllt ist, d. h. die gleiche Struktur wie bei *Tocophrya quadripartita.* [1])

Beim Hungern nehmen die zuvor sehr kleinen (kaum 1 μ) Chromatinkörner an Umfang zu (bis zu 3 μ; Fig. 8 *A*); eine ebensolche Größenzunahme der Körner findet auch während der Fortpflanzungsvorgänge statt; besonders groß sind die Körner bei dem Embryo. Collin (1908) vermutet, daß wir es in letzterem Falle mit einer „épuration" zu tun haben, daß auf die jungen Tiere die aktiveren Elemente des Kernes übertragen werden; es will mir jedoch scheinen, als ob die Zunahme der Körner an Umfang ein Ergebnis erzwungenen Hungerns sei, indem die Embryonen in keiner Weise befähigt sind, Nahrung aufzunehmen.

Greenwood unterscheidet bei *Carchesium polypinum* zweierlei Arten von Chromatinkörperchen im Kern: „protomicrosomes", d. h. kleine in dem achromatischen Netze liegende Chromatinkörner und „protomacrosomes", welche durch Verschmelzen der ersteren unter-

[1]) Ich konnte mich sowohl am lebendigen Objekt, wie auch an gefärbten Präparaten davon überzeugen, daß die Kernstruktur von *Dendrocometes* mit der von Plate beschriebenen Struktur identisch ist.

einander entstehen; letztere treten nur während des Hungerns auf. Den gleichen Vorgang beschrieb MITROPHANOW bei den Paramäcien. Der Prozeß der Volumzunahme der Körner bei *Tocophrya* ist analog dem gleichen Vorgang bei *Carchesium* und *Paramaecium*, und dies um so mehr, als man bei längerem Hungern bisweilen außerordentlich große Macrosome beobachten kann, welche den größten Teil des Kernes einnehmen (Fig. 8). Der Unterschied besteht darin, daß echte Microsome, d. h. in dem achromatischen Netz eingeschlossene Chromatinklümpchen bei *Tocophrya* ganz fehlen, indem selbst die kleinsten „Binnenkörper" immerhin noch eher Macrosome zu nennen sind. Die Prozesse der Größenzunahme der Chromatinkörperchen bei *Tocophrya* und bei den Ciliaten können demnach nicht als völlig homolog bezeichnet werden.

Außer den Chromatinkörnern und dem nicht immer vorhandenen achromatischen Netz findet sich in dem Kern noch ein drittes Element: zwischen den Körnern des Kernes bemerkt man auf Schnitten helle Flächen, an deren Peripherie sich Körner lagern, wobei sie gleichsam eine Alveolarschicht bilden (Fig. 7, 9 *A*, *Kv*). Bisweilen gelingt es, in deren Innern mit Eisenhämatoxylin schwach gefärbte Alveolenwände zu unterscheiden, bisweilen aber haben sie einfach das Aussehen gräulich gefärbter Flächen, ohne bemerkbare Struktur. Von derartigen Bildungen bei den Ciliaten ist mir nichts bekannt. Auch bei den Suctorien scheinen sie nicht beschrieben worden zu sein. Eine sehr übereinstimmende Abbildung habe ich bei SCHRÖDER gefunden: die „Binnenkörper" von *Epistylis plicatilis* sind nicht dunkler abgebildet als das übrige Kernnetz, und mit ihren Alveolen. Allein auf meinen Präparaten von *Epistylis* (welche zusammen mit den Suctorien geschnitten wurden) waren alle ihre „Binnenkörper" dunkler als die übrige Kernmasse, so daß dies dennoch echte Macrosome sind und nicht mit den hellen Körperchen der Kerne von *Tocophrya* homologisiert werden können.

ENTZ (1903) hat eine eigenartige Auffassung von der Struktur des Kernes ausgesprochen, und zwar sollen nach ihm die einzelnen Körnchen durch einzelne Fäden miteinander verbunden sein. Diese Struktur hält ENTZ überhaupt für die allgemeine Struktur des Protoplasmas. Wenn diese Fäden erkennbar wären, so würden es die Zwischenwände der Alveolen sein. Allein ich habe, wie bereits oben gesagt wurde, keinerlei Zwischenwände bemerken können.

Micronucleus. Derselbe ist außerordentlich klein, von höchstens 1,5 μ Durchmesser. In seinem Mittelpunkt bemerkt man eine dunkle Anhäufung, an seiner Peripherie einen hellen Raum

(Fig. 6). Was seine Teilung betrifft, so habe ich nur ein Stadium derselben beobachten können, und zwar das Auftreten der Spindeln zwischen den Tochter-Micronuclei. Es ist dies eines der von Hickson und Martin mitgeteilten Stadien der Caryokinese. Bei unserer Art war ein Micronucleus noch nicht signalisiert worden. Die geringe Größe des Micronucleus ist für die typischen *Suctoria* überhaupt charakteristisch (Maupas 1889).

II. Physiologisches.

Das Saugen. Der Prozeß des Saugens selbst ist schon von vielen Autoren beschrieben worden, so daß ich ihn nur kurz berühren werde. Wenn ein vorüberschwimmendes Infusor einen Tentakel von *Tocophrya* berührt, so bleibt es sofort an demselben kleben. Ich vermute, daß dieses Ankleben durch die klebrige Eigenschaft des Plasmakügelchens am Ende des Tentakels bedingt wird. Sodann zieht sich der Tentakel zusammen und wird dicker. Diese Kontraktion trägt einen ganz anderen Charakter als die gewöhnliche, durch äußere Reize hervorgerufene Zusammenziehung des Tentakels. In letzterem Falle sehen wir, daß die Pellicula sich in Falten legt, welche den Eindruck einer Spirale hervorrufen, während sie hier glatt bleibt und sich höchstens kleine Runzelungen zeigen. Die Ursache dieser Erscheinung ist darin zu suchen, daß bei der gewöhnlichen Kontraktion ein Dickerwerden des Tentakels fast gar nicht stattfindet, in unserem Falle dagegen der Tentakel seinen Querschnitt um das 2—3fache vergrößert, so daß die Falten ausgeglichen werden. Der elastische Pellicularing an der Spitze des Tasters zieht sich nicht, die Öffnung verschließend, zusammen, sondern erweitert sich zu einem weiten Saugnapf, welcher sich dicht an die Pellicula des erbeuteten Infusors anlegt (wie dies von Maupas, Nutting und Sand beobachtet wurde). Bisweilen kann man diese Saugnäpfe übrigens auch ohne alles Saugen bemerken. Der innere Tentakelkanal erweitert sich und das Protoplasma des Beutetieres beginnt in das Innere des Suctorienkörpers zu strömen. Was die Ursache dieses Strömens betrifft, so habe ich hierüber keinerlei Beobachtungen anstellen können. Ich weiß nicht, ob wir es hier mit einer Art Druckpumpe zu tun haben, wie Eismond dies vermutet. Der Vorgang des Saugens dauert nur so lange an, als die Pellicula des Infusors unverletzt ist, d. h. nur sehr kurze Zeit nach dem Tode. Bevor das Infusor nicht bis zur Hälfte seiner Größe zusammengefallen ist, fahren die Wimpern fort sich zu bewegen, und

die kontraktile Vacuole zieht sich zusammen. Dieses spricht gegen die Hypothese von Maupas, wonach das erbeutete Infusor zuvor durch eine aus dem Tentakel ausgehende zentrifugale Strömung getötet wird; dieser Hypothese hatte sich auch Sand angeschlossen.

Verwandlung des ausgesaugten Plasmas im Körper der Suctorie. Um das fernere Schicksal des ausgesaugten Plasmas im Suctorienkörper verfolgen zu können, habe ich die Methode der Färbung intra vitam angewendet. Am passendsten hierzu erwies sich das Neutralrot, durch welches das Plasma der Suctorie äußerst intensiv gefärbt wird, während die Paramäcien, an denen ich meine Versuche anstellte, nur eine schwache Färbung annehmen. Die aufgesaugte Nahrung erschien infolgedessen zuerst farblos weiß, sodann hellrosa auf grellrotem Hintergrunde. Die Beobachtungen an ungefärbten Objekten ergaben geringe Resultate, indem der Brechungskoeffizient beider Plasmen annähernd der gleiche ist. Nur auf späteren Stadien des Vorganges waren auch ungefärbte Infusorien gut zu erkennen.

Vor allem ist hervorzuheben, daß das ausgesaugte Plasma sich nicht mit dem Plasma der Suctorie vermischt, sondern die ganze Zeit über von demselben abgesondert bleibt, wie dies auch von Bütschli (1889) angenommen und von Sand (1899/1901) beobachtet worden ist. Die allerersten Beobachtungen hierüber verdanken wir Maupas (1881).

Zu Beginn des Saugens strömt das Plasma rasch aus dem Tentakel nach dem Innern der Suctorie und füllt in Gestalt eines großen Klumpens den halben Suctorienkörper aus. Allein dieses intensive Saugen dauert nicht lange an und das Plasma beginnt bald langsamer zu strömen. Dieser Klumpen kann als Klumpen 1. Ordnung bezeichnet werden. Von Sand wurden solche Klumpen nicht beobachtet. Der Klumpen 1. Ordnung ist nicht von langer Dauer, denn bald entstehen in demselben plasmatische Zwischenwände (was auch direkt beobachtet werden kann) und er zerfällt in mehrere kleinere (5—6) Klumpen 2. Ordnung (10—15 μ Durchmesser). Inzwischen schaffen die Tentakel, welche das Saugen verlangsamt haben, neue Klumpen 2. Ordnung [1]) herbei, welche sich von den inneren Fortsätzen der Tentakeln losreißen und von der allgemeinen Cyclose mit fortgerissen werden. Die Klumpen 2. Ordnung fahren indessen fort sich zu furchen: in ihnen entstehen plasmatische Zwischenwände und es bilden sich zahlreiche Klumpen 3. Ordnung

[1]) Die Klumpen 1. Ordnung treten nur beim Beginn des Prozesses auf.



(von 2—3 μ Durchmesser). Niemals werden Klumpen 3. Ordnung vor dem Zerfall des Klumpens 1. Ordnung gebildet. Von den Befunden Sand's weichen meine Beobachtungen insofern ab, als nach diesem Autor sofort Klumpen entstehen, welche meinen Klumpen 3. Ordnung entsprechen; Klumpen 1. und 2. Ordnung hat Sand nicht unterschieden.

Während der Furchung der Klumpen blieb das Protoplasma der Paramäcien die ganze Zeit über lebendig, sein Aussehen veränderte sich nicht und die Körner bewahrten ihren Glanz. Nunmehr verändern sich die Verhältnisse aber ganz plötzlich. In die Plasmaklumpen dringt eine Flüssigkeit herein, was zur Folge hat, daß dieselben sich von der ihnen als Wandung dienenden Plasmaschicht loslösen, und eine Vacuole zur Bildung gelangt, welche den ursprünglichen Klumpen etwas an Größe übertrifft. Das Plasma wird in diesem Safte gleichsam aufgelöst, es wird blaß, die Körner bekommen ein verschwommenes Aussehen und schließlich ist die Vacuole von einem flüssigen Inhalt mit undeutlichen Resten plasmatischer Granulationen erfüllt. Es geht demnach eine echte Verdauung vor sich. Dieser Verdauung widerstehen indessen die in den Protoplasmaklumpen eingeschlossenen Trichocysten, welche noch lange Zeit hindurch zu sehen sind.

Die Vacuole gibt etwas Flüssigkeit an das umgebende Plasma ab, ihr Umfang wird geringer, der Inhalt verdichtet sich und es ergibt sich ein glänzendes Körperchen, welches von Heidenhain-schem Hämatoxylin dunkel gefärbt wird, von Kernfarben dagegen heller als der Kern, aber doch dunkler als das umgebende Plasma. Diese Körperchen wurden infolge ihres starken Lichtbrechungsvermögens für Fettkörperchen angesehen, allein bei keinem einzigen der Autoren konnte ich einen auf mikrochemische Reaktionen begründeten Nachweis für diese Ansicht finden. Sand hält dieselben für Albuminoidkörperchen, gibt aber die Möglichkeit der Anwesenheit von Fett bei den Suctorien zu. Ich habe auch Versuche mit Sudan und mit Osmiumsäure angestellt, und zwar auf allen Stadien der Fütterung und des Hungerns, habe aber nur negative Resultate erzielt. Das Fett bildet demnach bei *Toc. quadripartita* kein unbedingtes Produkt des Stoffwechsels.

Die auf diese Weise entstandenen Körperchen haben 2—4 μ im Durchmesser; sie sind vollständig rund und homogen, stark lichtbrechend und werden von Heidenhain'schem Hämatoxylin gefärbt (Fig. 6, 21 *Nk*). Bei satten *Tocophrya* füllen sie das ganze Plasma aus, so daß letzteres bei geringer Vergrößerung ganz dunkel und

undurchsichtig erscheint, wodurch die Untersuchung sehr erschwert wird. BÜTSCHLI (1889) unterscheidet drei Arten von Körperchen: 1. Ungefärbte Körner, 2. Tinktinkörner, die sich dadurch von ersteren unterscheiden, daß sie mit Kernfarben gefärbt werden, und 3. gefärbte Einschlüsse, wie sie bei *Ephelota* und einigen anderen angetroffen werden. Bei *Tocophrya* kommen nur die beiden ersten Arten von Körperchen vor, indem die gefärbten Einschlüsse fehlen.

Was den Ursprung dieser Körper betrifft, so sind hierüber verschiedene Hypothesen aufgestellt worden. Daß dieselben aus der Nahrung hervorgehen, war schon lange bekannt und ist von SAND besonders überzeugend nachgewiesen worden. SAND vermutete indessen, daß die Tinktinkörper aus dem Kern des Beutetieres hervorgehen, während es unbekannt bleibt, in was sich dessen Plasma verwandelt; außerdem vermutet dieser Autor, daß die „sphères protoplasmiques" bei der Verdauung der „sphères de tinctine" aus diesen letzteren hervorgehen. Die Auffassung von SAND wird auch von MARTIN für *Acineta poculum* und *Ophryodendron* vertreten. In letzterem Falle gehen die ganzen Kerne des Ectosarks von Hydroidpolypen durch den Tentakel der Acinete hindurch.

Von meinen Beobachtungen ließe sich die eine zugunsten einer solchen Auffassung auslegen, und zwar diejenige, daß bei der Färbung der Körner mit einfachen Kernfarben zwei Arten derselben zu unterscheiden sind: schwach färbbare und sich intensiv färbende Körner (echte Tinktinkörper). Von letzteren Körpern finden sich nur wenige im Protoplasma, und auch dies nicht immer. Es ist wohl möglich, daß diese Körper in der Tat von Kernen herrühren. Andererseits sprechen direkte Beobachtungen gewissermaßen gegen eine solche Annahme: der Kern, die Nahrungsvacuole und die Excretkörner sind in dem abgestoßenen Rest des Beutetieres enthalten. Allein meine Beobachtungen beziehen sich nur auf normale Paramäcien; wenn jedoch zufällig irgendein Infusor mit einem (wenn auch nach der Conjugation) in Bruchstücke zerfallenen Kerne gefangen werden sollte, so ist es durchaus nicht unmöglich, daß diese Bruchstücke klein genug sind, um durch die Tentakeln hindurchzugehen und dann Tinktinkörper entstehen lassen.

Was nun die „gefärbten Einschlüsse" betrifft, so werden dieselben, nach den von KÖPPEN an *Ac. papillifera* angestellten Beobachtungen, aus dem Chlorophyll der Stentoren gebildet, von denen sich diese Art nährt. Bei *Toc. quadripartita* sind dieselben nicht vorhanden.[1])

---

[1]) Bei *Acineta tuberosa* oder einer dieser nahestehenden Art konnte ich alle

Die „ungefärbten Körner“ entstehen demnach aus dem Protoplasma der Beute, die „Tinktinkörper“ aus deren Kernen, die „gefärbten Einschlüsse“ dagegen aus dem Chlorophyll von grünen Infusorien und Zoosporen von Algen, welche vielen Suctorien zur Nahrung dienen.

Hungern. Läßt man eine *Tocophrya* in Wasser, welches keine Infusorien mehr enthält, so sehen wir, daß die Nahrungskörper beginnen an Umfang abzunehmen, eine unregelmäßige Gestalt anzunehmen und endlich ganz zu verschwinden. Es ist ihre Assimilation vor sich gegangen, sie haben ihre Rolle als Reservenährstoffe ausgeübt. Die Suctorie ist nunmehr ganz hell geworden und läßt sich daher bequem untersuchen, eine Methode, welche schon von Bütschli (1876) für die gleiche Art angewendet worden ist.

Nach dem Verschwinden der Körner beginnen nunmehr andere Veränderungen einzutreten: die Kernstruktur verändert sich in der oben angegebenen Weise, es tritt eine verstärkte Fortpflanzung ein, die Taster werden eingezogen, der Körper wird immer kleiner und kleiner und endlich verschwindet mit der letzten Knospe auch der Kern und der übriggebliebene Plasmaklumpen geht zugrunde. Ein derartiger Verlust des Kernes war schon bei vielen Suctorien beobachtet worden, doch kommt ihm nicht immer dieselbe Bedeutung zu. Bei *Dendrocometes* z. B. ist der Verlust des Kernes nach Plate mit der Häutung der Kiemenblätter von *Gammarus* verknüpft, an welchen diese Suctorien angeheftet sind. Offenbar müßten sie ohne diese Prozedur zugrunde gehen. Gemeinschaftlich ist hier der Umstand, daß der gleiche Prozeß unter der Einwirkung ungünstiger Lebensbedingungen und um dieselben zu vermeiden eintritt. Ein Unterschied dagegen besteht darin, daß *Dendrocometes* noch bei vollen Kräften übersiedelt, *Tocophrya* dagegen erst nach definitiver Schwächung.

III. Fortpflanzung.

Teilung. Die Teilung habe ich leider bei weitem nicht vollständig beobachten können; aber auch für die von mir beobachteten Stadien habe ich gegenüber den alten, aber gründlichen Beobachtungen Bütschli's (1876) wenig Neues gefunden, wie auch weder Sand noch Köppen denselben kaum etwas Neues hinzufügen konnten.

Übergänge zwischen grünem Chlorophyll und dessen Verdauungsreste, d. h. den braunen „gefärbten Einschlüssen“ verfolgen.

Der Macronucleus erleidet vor der Teilung, unter Bewahrung seiner äußeren Gestalt (d. h. eines Kegels mit abgestumpfter, dem Stiele zugewendeter Spitze sowie mit 2 Protuberanzen versehener, der vorderen Fläche zugewendeter Basis), tiefeingreifende Veränderungen seiner Struktur (Fig. 21). Die Chromatinkörner verschmelzen untereinander zu Fäden, so daß der Kern ein faseriges Aussehen erhält. Diese Struktur haben alle Autoren, von Bütschli angefangen, beobachtet. Auch bei den Ciliaten tritt diese Struktur ganz allgemein bei der Teilung auf. Das einzige, was meiner Ansicht nach hier hervorzuheben wäre, ist der Umstand, daß auch hier (entgegen der Annahme von Bütschli [1889]) eine Alveolarstruktur nicht auftritt, indem die Fäden in einer homogenen Substanz herumschwimmen. Diese Beobachtung trifft mit den von Hickson (1909) an *Dendrosoma* angestellten überein.

Die Veränderungen in der äußeren Gestalt des Macronucleus während der Teilungsvorgänge selbst brauche ich nicht zu beschreiben, indem meine Beobachtungen denjenigen von Bütschli (1876) nichts Neues hinzufügen.

Der Macronucleus behält die ganze Zeit über, wie dies auch aus den Zeichnungen von Bütschli hervorgeht, seine faserige Struktur bei. Wenn die Teilung schon beinahe beendet ist, aber zwischen den Kernen noch immer eine ziemlich breite Brücke erhalten bleibt, erfolgt die Wiederherstellung der normalen Kernstruktur: die Stäbchen verwandeln sich wiederum in Körner. In dieser Zeit nehmen beide Tochterkerne eine abgerundete Gestalt an. Die Faserstruktur bleibt auf diesem Stadium nur in dem beide Kerne miteinander verbindenden Stiele bestehen (Fig. 11). Dieses Stadium wird von Köppen nebenbei erwähnt. Diese Beobachtung stimmt mit denjenigen Bütschli's nicht völlig überein. Bütschli hatte die Wiederherstellung der körnigen Struktur erst nach erfolgter Kernteilung beobachtet. Ich vermute, daß dieser Vorgang Schwankungen unterliegt.[1])

Hierauf wird der beide Kerne miteinander verbindende Stiel immer dünner und reißt endlich ganz durch. Am Kern bleibt ein kleines Schwänzchens hängen, wobei das Ganze das Aussehen einer Birne erhält. Dieses Stadium wurde von Plate bei *Dendrocometes* beobachtet.[2]) Bei *T. quadripartita* war dasselbe noch nicht beobachtet worden (Fig. 10). Hierauf nimmt der Kern eine runde Gestalt an.

---

[1]) Diese faserige Brücke zwischen beiden körnigen Tochterkernen konnte ich auch bei *Tocophrya cyclopum* beobachten.

[2]) Dasselbe konnte ich auch bei *Acineta tuberosa* beobachten.

Was die Teilung des Micronucleus betrifft, so konnte ich von derselben, wie ich bereits oben erwähnt habe, nur ein Stadium beobachten.

Auch in bezug auf die Prozesse, durch welche der Embryo aus dem Mutterkörper ausgeschieden wird, kann ich den Beobachtungen Bütschli's nur sehr wenig hinzufügen. Ich kann nur angeben, daß die Stelle, wo die Einstülpung vor sich geht, von einer Pellicula bedeckt ist, welche dehnbarer ist als die Pellicula des übrigen Körpers. Auf den meisten Präparaten, wie auch an lebenden Exemplaren, wenn man sie preßt, stülpt sich an dieser Stelle ein Tuberkel vor, der unter normalen Bedingungen meist nicht vorhanden ist. Er erscheint nämlich normalerweise erst vor dem Beginn der Einstülpung und wird dann plötzlich nach innen eingezogen, so daß die ihn bekleidende Pellicula sich unmittelbar in die die Einstülpung auskleidende Pellicula fortsetzt. Nachdem die Einstülpung einmal gebildet ist, so erfolgt ihre weitere Ausdehnung nunmehr in der von Bütschli beschriebenen Weise: sie vertieft sich in der Ebene der beiden Vacuolen und erweitert sich sodann in einer senkrecht zu dieser liegenden Ebene, indem sie den Embryo gleichsam herausschält.

Die Wimpern treten schon sehr früh auf, sobald sich die Einstülpung in der Ebene der beiden Vacuolen auszubreiten beginnt. Je weiter sich die Einstülpung verbreitert, um so mehr Wimpern treten auf. Zuerst erscheinen die Wimpern in einer Furche, welche in der Fläche der Vacuolen verläuft, und zwar zu je einer Reihe auf jeder Seite der Furche und zu einer Reihe auf dem Grunde (Fig. 21 *ci*). Der Boden dieser Furche weist eine besondere Anhäufung von Protoplasma in Gestalt eines Stranges auf, welcher sich unter der ganzen Einstülpung hinzieht und sogar etwas über diesen Rand hervortritt, indem er gleichsam ihre Richtung angibt. Dieser Strang entbehrt der Granulationen und färbt sich mit Heidenhain-schem Hämatoxylin dunkler als das umgebende Plasma. Vielleicht differenzieren sich aus demselben die Wimpern, doch verfüge ich über zu wenig Beobachtungen, um im gegebenen Falle etwas Bestimmtes aussagen zu können (Fig. 21). Der Embryo ist derart in der Keimhöhle orientiert, daß seine Längsachse senkrecht zur Längsachse des Muttertieres steht, der Wimpergürtel mit der Ebene der Vacuolen zusammenfällt und der Saugnapf, an dessen Stelle späterhin der Stiel ausgeschieden wird, seitlich gewendet ist und nach oben sieht. Einige Schlüsse aus diesen Beobachtungen werde ich später ziehen, wenn von der Befestigung des Embryos die Rede sein wird.

Der Embryo. Die von Bütschli (1876) und Collin (1909) gegebenen Zeichnungen des Embryos von *Tocophrya* sind nicht richtig. Beide geben nur äußere Merkmale wieder, nicht aber die Gestalt. Die Zeichnung von Bütschli scheint mir nach einem gequetschten Exemplar angefertigt worden zu sein; die Beschreibung dazu lieferte Köppen.

Der Embryo besitzt nicht eine absolut radiäre Symmetrie, wie dies auf der Zeichnung von Bütschli angegeben ist, auch nicht eine durch die „adorale“ Wimperzone unterbrochene radiäre Symmetrie, wie dies auf der Collin'schen Zeichnung zu sehen ist. Seine Symmetrie ist eine bilaterale: er ist seitlich etwas komprimiert und außerdem kommt weder der Saugnapf noch die „adorale“ Wimperzone in seine Längsachse zu liegen. Das Vorderende ist schwach abgeschrägt. Im großen ganzen hat er die Gestalt eines leicht komprimierten Ellipsoids (Fig. 14—17).

Als Vorderende werde ich das beim Schwimmen nach vorn gerichtete Ende bezeichnen, als Bauchseite diejenige Seite, auf welcher sich der Saugnapf befindet, als Rückenseite die dieser gegenüberliegende Seite. Beim Schwimmen haben diese letzteren Bezeichnungen keinerlei Bedeutung, da der Embryo sich dreht.

In der Mitte des Embryos, auf der Bauchseite nach vorn, auf der Rückenseite nach hinten ausgebuchtet, verläuft der Wimpergürtel, welcher aus 5 Reihen von Wimpern besteht, wie bei *T. cyclopum* nach Collin (1909). Nach Bütschli sind es deren 4. Außerdem finden sich hinten 5—6 an der Bauchfläche entspringende und nach der Rückseite verlaufende Wimpern, welche nach Collin der adoralen Spirale homolog sind.

Vorn liegt der „Saugnapf“, ein kleiner, runder, in der Mitte leicht eingedrückter Bezirk, welcher von innen her mit dichterem, schwach radiär gestreiftem Protoplasma umgeben ist. Es ist dies die Stelle, wo der Stiel ausgeschieden wird.

Was den inneren Bau des Embryos betrifft, so sind in dem Plasma nur selten Körner enthalten; wenn solche auch vorhanden sind, so verschwinden sie doch bald, nachdem der Embryo ins Freie gelangt ist. Augenscheinlich werden sie von demselben bei seinem heftigen Schwimmen bald aufgebraucht.

Der Macronucleus ist rund, mit sehr großen Körnern, der Micronucleus liegt demselben dicht an. Ich habe, ebenso wie Collin, das Platzen der Chromatinkörner und die Verteilung des Chromatins über das Plasma beobachtet.

Befestigung des Embryos. Sofort nach seinem Austritt beginnt der Embryo zu schwimmen, anfangs langsam, darauf sehr stürmisch, wobei er bogenförmige Bewegungen ausführt und sich dabei um seine eigene Achse dreht. Hierauf verlangsamen sich seine Bewegungen und es beginnt die Verwandlung. Vor allem erfolgt eine Einstülpung auf der Vorderseite, welche den gesamten vorderen Teil des Embryos bis zu der Wimpernreihe umfaßt, so daß er gleichsam längs dieser Reihe abgeschnitten erscheint (Fig. 18). Der Saugnapf bleibt am Rande dieser Einstülpung. Hierauf senkt sich der Saugnapf in die Tiefe dieser Einsenkung hinab und diese selbst wird ausgeglichen, so daß der vordere Teil des Embryos wiederum unter der vorderen Wimpernreihe hervortritt und einen engen und tiefen Kanal bildet, an dessen Grunde der Saugnapf liegt (Fig. 20).

Den Beginn der Abscheidung des Stieles, sowie die Abscheidung der Cementplatte habe ich leider nicht beobachten können; ich vermute indessen auf Grund ihrer Gestalt, daß die Platte von der gesamten vorderen Körperfläche abgeschieden wird (vgl. Fig. 28 u. 22). Hierauf beginnt die Abscheidung des Stieles. Anfangs sitzt sein Ende im Innern des Embryokörpers, wie dies Köppen beobachtet hat (Fig. 22, 23). Dies ist durchaus verständlich, da wir gesehen haben, daß der „Saugnapf" vor der Festsetzung des Embryos nach innen hereingedrückt wird. Am Ende des noch nicht zu einer Rosette erweiterten Stieles sieht man, wie bei dem erwachsenen Tiere, eine helle Plasmaanhäufung, welche sich in lebhafter Bewegung befindet. Es heften sich fortwährend neue Körnchen an das Ende des Stieles an, welcher auf diese Weise ein Längenwachstum erfährt. Später, wenn das Wachstum des Stieles sein Ende erreicht, werden angeschwollene Fäden abgelegt, welche die Rosette des erwachsenen Tieres bilden. Allein dies geht nur beim Anfang des Umstülpens vor sich, von dem weiter unten die Rede sein wird. Der Kern liegt die ganze Zeit über dem Stiel unmittelbar an (Fig. 24—26) und behält eine runde Gestalt bei.

Der auf Fig. 22 noch ganz deutliche Wimperngürtel geht allmählich zugrunde. Die Furchen werden ausgeglichen, die Wimpern zerfallen zum Teil, zum Teil werden sie eingezogen (Fig. 23).

Noch bevor die Abscheidung des Stieles und das Abwerfen der Wimpern beendet ist, beginnt schon die Bildung der Tentakel (Fig. 22, 23). Dieselben treten zuerst in Gestalt kleiner Tuberkeln auf, wachsen dann aus, ihr Ende öffnet sich und es kommt eine plasmatische Kugel zum Vorschein. Dieser Prozeß geht überaus

rasch vor sich, so daß ich seine Einzelheiten nicht verfolgen konnte.

Sehr erstaunt war ich über die Stelle des Auftretens der Tentakel: sie erscheinen nicht etwa vorn, wie man dies erwarten könnte, sondern seitlich, und zwar 2 Bündel unterhalb und 2 Bündel oberhalb der Wimpernfurche (Fig. 22, 23); hierauf erfolgt das Geraderichten des Körpers der jungen *Tocophrya*, so daß zuletzt alle 4 Tentakelbündel vorn zu liegen kommen, wie dies bei dem erwachsenen Tiere der Fall ist. Jetzt fehlen nur noch die 4 Tuberkel unter den Tentakeln und die pyramidenförmige Gestalt des Körpers. Bald tritt dann beides auf und die junge *Tocophrya* ist fertig. Der Stiel hat sich schon anfangs herausgewunden, die Rosette hat sich gebildet und er ist aus seiner Scheide herausgetreten (Fig. 24—28).

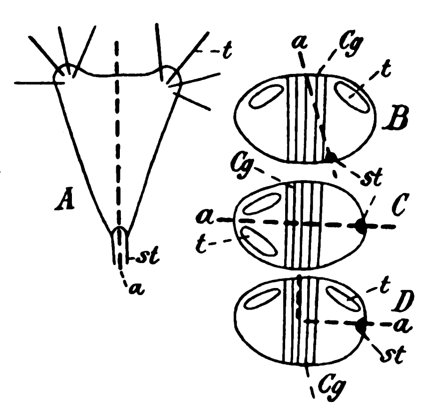
Diese Vorgänge hat auch Köppen bei *T. quadripartita* beobachtet, sowie analoge Vorgänge bei *Acineta papillifera*. In letzterem Falle besteht ein Unterschied darin, daß nur 2 Tentakelbündel vorhanden sind, wobei das eine unten, das andere oben zum Vorschein kommt. Auf Grund dieses Prozesses müssen wir einige *Tocophrya*-Arten (die II. Gruppe nach Bütschli), bei denen die Tentakelbündel zum Teil seitlich sitzen, für mehr ursprünglich halten, diejenigen Arten dagegen, bei denen alle Bündel vorn sitzen (III. Gruppe nach Bütschli), für höher spezialisiert.[1])

Wir wollen nunmehr versuchen, die Beobachtungen über die Orientierung des Embryos im Mutterleibe und über seine Befestigung auf die Fragen über die allgemeine Morphologie der Embryonen der Suctorien anzuwenden. Hierüber sind zweierlei Ansichten, Bütschli (1889) und Collin (1908, 1909) ausgesprochen worden. Bütschli ist der Meinung, daß die Längsachse des erwachsenen Infusors mit derjenigen des Embryos übereinstimmt. Hieraus folgert er, daß die Stelle, wo der Stiel abgeschieden wird und befestigt ist, seitlich auf der Rückenfläche des Embryos liegen muß, und zwar in der Nähe des Wimpergürtels. Es liegt aber noch eine andere Folgerung nahe: die Tentakel von *T. quadripartita* müssen seitlich am Wimpergürtel abgeschieden werden, und zwar an der Bauchfläche des Embryos (in der Bruthöhle liegt der letztere mit der Bauchseite nach oben). Die erstere Folgerung ist nicht richtig. Die Befestigungsstelle liegt, wenn ich dies auch nicht direkt beobachtet habe, jedenfalls nicht an der Rückenseite des Embryos,

[1]) Ich konnte einige Abnormitäten im Entwicklungsgang beobachten: die Stiel- und Tentakelausscheidung im Innern der Bruthöhle, sowie stiellose Individuen.

sondern, höchst wahrscheinlich, an dessen vorderem Ende, wie man dies aus der Gestalt der Cementplatte schließen kann. Der Ort der Abscheidung des Stieles entspricht demnach nicht dem Orte seiner Befestigung: der Stiel wird in der Mitte der vorderen Seite abgeschieden. Die zweite von mir gemachte logische Schlußfolgerung aus dem Satz von Bütschli bestätigt sich dagegen. Obgleich ich nicht beobachtet habe, auf welcher Seite des Embryos, der Bauchseite oder der Rückenseite, die Tentakelbündel abgeschieden werden, so halte ich es dennoch für mehr als wahrscheinlich, daß dies gerade auf der Bauchseite der Fall ist, jedenfalls aber an den Seiten des Wimperngürtels.

Collin (1909) glaubt umgekehrt, daß die Achse des Embryos und diejenige des erwachsenen Tieres in der Bruthöhle einander parallel sind. Hieraus resultieren die Schlüsse: 1) Der Stiel und die Befestigungsstelle befinden sich am vorderen Körperende des Embryos und 2) alle vier Tentakelbündel werden am hinteren Ende des Embryos abgeschieden. Erstere Annahme ist zwar nicht ganz genau (der Ort der Befestigung und derjenige des Austritts des Stieles sind zwei verschiedene Dinge), allein in ihren allgemeinen Zügen doch richtig; die zweite Annahme dagegen wird durchaus nicht bestätigt, indem die Tentakelbündel seitlich abgeschieden werden.



A = erwachsene Suctorie, B = Embryo nach Bütschli, C = nach Collin, D = nach meiner Vorstellung (der Embryo ist so orientiert, wie er in der Bruthöhle der Mutter liegt). a = Längsachse der erwachsenen Suctorie, t = Tentakel und deren Abscheidungsstelle beim Embryo, st = Stiel und dessen Abscheidungsstelle, Cg = Wimperngürtel.

Nach meinen Beobachtungen fallen demnach die beiden hauptsächlichsten Schlußfolgerungen mit verschiedenen Theorien überein, indem 1) die Tentakel seitlich ausgeschieden werden (entsprechend Bütschli), 2) der Stiel vorn abgeschieden wird (entsprechend Collin).

Hieraus folgere ich meinerseits, daß die Achse des Embryos der Achse der erwachsenen Acinete nicht parallel ist (Bütschli), aber auch nicht senkrecht zu derselben (Collin), sondern daß die Achse der erwachsenen *Tocophrya* in dem Embryo unter einem

rechten Winkel gebogen erscheint (wenn man den Ort der Abscheidung des Stieles genau an das Vorderende des Embryos verlegt). Diese morphologischen Verallgemeinerungen werden durch die beigegebenen Schemata erläutert.

Ebenso scheint mir das oben Dargelegte gegen eine Homologisierung der Wimpern am Hinterende des Embryos mit der adoralen Spirale der Vorticellen zu sprechen, da diese Wimpern bei dem erwachsenen Tiere seitlich angebracht sind.

Es erübrigt nunmehr noch einige Worte über die im Macronucleus nach der Verwandlung vor sich gehenden Veränderungen zu sagen. Während des Verlaufes der oben geschilderten Prozesse verblieb derselbe rund. Während der Bildung des Stieles liegt er an dessen Ende, und wenn diese Bildung beendet ist, so entfernt sich der Macronucleus von dem Stiel. Plötzlich beginnt er sich in die Länge zu strecken, sich zuzuspitzen und nimmt eine spindelförmige Gestalt an (Fig. 29). An den Enden ist kein Chromatin enthalten, was den Eindruck eines Centrosoms hervorruft; die Rolle der achromatischen Spindel übernehmen die radiär angeordneten hellen Streifen, von denen bei der Beschreibung des Macronucleus die Rede gewesen ist. Es entsteht gleichsam eine mitotische Spindel. PLATE (1886) hat zuerst bei *Dendrocometes* derartige Spindeln beobachtet und spricht sich in ganz bestimmter Weise dafür aus, daß dieselben mit der Fortpflanzung nichts zu tun haben, ohne jedoch ihre Bedeutung näher zu bestimmen. SAND (1896, 1900) und SWARCZEWSKY (1908) dagegen verfallen in den Irrtum, diesen Spindeln die Bedeutung von Vorbereitungsphasen für die Teilung zuzuschreiben.

Nichts dergleichen ist der Fall und diese Figuren haben mit der Teilung und um so mehr mit der Mitose nicht das geringste zu tun. Beobachten wir eine solche Figur genauer, so werden wir sehen, daß das eine ihrer Enden sich abrundet. Es entstehen jene Kerne mit abgerundetem Ende, in welchen Reste des alveolären Netzes zu sehen sind. Sodann rundet sich auch das andere Ende der Spindel ab, während das stumpfe Ende eine schwache Zweiteilung erfährt, und es resultiert zuletzt der völlig reife Kern.

Obgleich ich dies bei erwachsenen Infusorien nicht direkt beobachtet habe, so veranlaßt mich das Vorhandensein von solchen Kernfiguren bei ihnen doch zu der Voraussetzung, daß diese Vorgänge den gewöhnlichen Verlauf für die Wiederherstellung der normalen Kerngestalt aus der runden nach der Teilung darstellen.



IV. Biologisches.

Eine Erwähnung verdient die Symbiose von *T. quadripartita* mit *E. plicatilis*. Augenscheinlich hat sie eine ziemlich wichtige Bedeutung für *T. quadripartita*, da ich nur ein einziges Mal eine ohne *Epistylis* unmittelbar auf der Schnecke sitzende *T. quadripartita* angetroffen habe. Mehrere Male ist es mir gelungen, die Infusorien ziemlich lange in der feuchten Kammer aufzubewahren, und stets setzten sich die Embryonen an die Stiele der am Leben gebliebenen *Epistylis*, so daß schließlich 5—6 junge *Tocophrya* an jedem Exemplar saßen. Die *Tocophrya* sind viel ausdauernder als die *Epistylis*, so daß bei der Aufbewahrung im Uhrgläschen letztere früher zugrunde gehen; führte man jedoch die Büschel in frisches Wasser über, so gingen die *Tocophrya* ohne *Epistylis* unvermeidlich zugrunde; blieben dagegen noch *Epistylis* übrig, so erholten sich die *Tocophrya* und lebten weiter. Es will mir deshalb scheinen, als ob die Symbiose mit *Epistylis* nicht nur für die Ernährung der *Tocophrya* von Bedeutung ist, indem durch den Wasserstrom Infusorien herbeigetrieben werden, sondern auch für deren Atmung.

Cysten von *T. quadripartita* habe ich mehrere Male beobachtet. Bei der Aufbewahrung der Suctorien in der feuchten Kammer kann man dieselben unschwer erhalten. Sie werden nach 2—3 Tagen gebildet, wobei sich sowohl erwachsene Tiere als auch Embryonen encystieren; die ersteren fallen dann vom Stiel ab, so daß die Cysten niemals sessil sind. Sie haben das Aussehen von Kugeln mit dicker Hülle, welche von besonderen Vorsprüngen bedeckt ist; im Innern kann man einen Kern unterscheiden. Die Farbe der Hülle ist gelbbraun (Fig. 12).

Parasiten habe ich zweimal beobachtet, einmal aus der Gattung *Tachyblaston* Martin (Fig. 13), ein anderes Mal aus der Gattung *Acinetopsis* Robin, der von Collin gestellten, von Köppen ausführlich beschriebenen Fraipont'schen „diverticules générateurs".

Zusammenfassung.

Die Tentakel bestehen aus 1. einer Pellicula, welche die Fortsetzung der Körperpellicula darstellt und apikalwärts einen besonderen elastischen Ring bildet, 2. dem Protoplasma, welches eine

plasmatische Kugel an seinem Ende und eine kurze Fortsetzung nach innen bildet, 3. einem Zentralkanal. Der Macronucleus besteht aus Chromatinkörnern mit einer homogenen Zwischensubstanz; eine alveolare Struktur fehlt meist. Beim Hungern nehmen diese Körner an Umfang zu, bei reichlicher Ernährung werden sie kleiner. Das Protoplasma des ausgesaugten Infusors bildet Klumpen, die sich teilen und in die „ungefärbten Körner“ Bütschli's verwandeln, welch letztere die Rolle von Reservenahrungsstoffen spielen und während des Hungerns aufgebraucht werden. Die Teilung des Macronucleus erfolgt durch fibrilläre Amitose, der normale Bau wird noch vor der Beendigung der Teilung wiederhergestellt. Die Wimpern treten während der Teilung in einer besonderen Furche auf, welche in der Ebene der Vacuolen verläuft. Der Embryo ist in der Brusthöhle in der Weise orientiert, daß der Wimperngürtel senkrecht gestellt ist, während der Saugnapf schräg nach oben gerichtet ist. Er ist bilateral symmetrisch, mit 5 Wimpernreihen, dem Saugnapf vorn, 5—6 einzelnen Wimpern hinten; bei der Festsetzung stülpt sich der Saugnapf nach innen ein, so daß der von ihm ausgeschiedene Stiel zuerst in dem Innern des Körpers der jungen Infusorie angebracht ist, die Wimpern werden zum Teil zerstört, zum Teil eingezogen, die Tentakel treten seitlich auf und werden sodann durch sekundäre Einstülpung nach vorn verlagert. Die Annahmen von Bütschli, daß die Achsen der erwachsenen Suctorie und des Embryos einander parallel verlaufen, und die von Collin, wonach diese Achsen senkrecht aufeinander stehen, bestätigen sich in unserem Falle nicht: die Achse der erwachsenen Suctorie ist im Embryo gebogen. Die „mitotischen Spindeln“ des Macronucleus repräsentieren Phasen aus der Verwandlung des runden Kernes in den normal gestalteten Kern und haben absolut nichts mit der Teilung zu tun.

Literaturverzeichnis.

1) Bütschli: Über die Entstehung des Schwärmsprößlings der Podophrya quadripartita Cl.-L. Jen. Zeitschr. f. Naturwiss. 1876 X.

2) —: Protozoa. Bronn's Kl. u. Ordn. d. Tierreichs Bd. I T. III. Infusorien 1887—89 (Suctoria 1889).

3) —: Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. Leipzig 1892.

4) Collin: Note préliminaire sur quelques Acinétiens. Arch. Z. Exp. (4) VII 1907.
5) —: Quelques remarques sur Tocophrya cyclopum. Arch. Z. Exp. (4) VIII 1908.
6) —: Sur la symmétrie et l'orientation morphologique des embryons d'Acinétiens. Arch. Z. Exp. (5) II 1909.
7) Claparède et Lachmann: Études sur les Infusoires et les Rhizopodes T. I (tiré des tt. V et VI des Mémoires de l'institut Genèvois) 1859, T. II (tiré du t. VII) 1861.
8) Eismond: Zur Frage des Saugmechanismus der Suctorien. Z. Anz. XIII 1890.
9) Entz sen.: Über einige patagonische Protozoen. Math. u. naturw. Ber. Ungarn 1903 Bd. 21 (herausg. 1907).
10) Fraipont: Recherches sur les Acinétiens de la côte d'Ostende. Mem. Ac. Roy. Belg. XLIV—XLV 1877—78.
11) Greenwood: The Macronucleus of Carchesium. Journ. Physiol. XX 1896.
12) Hertwig: Über Podophrya gemmipara, nebst Bemerkungen zum Bau und zur systematischen Stellung der Acineten. Morph. Jahrb. I 1876.
13) Hickson & Wadshworth: Dendrocometes paradoxus. Part. I: Conjugation. Quart. Journ. Micr. Sc. XLV 1902.
14) —: Dendrosoma radians Ehrenberg. Ibid. LIV 1909.
15) Ishikawa: Über eine in Misaki vorkommende Art von Ephelota und deren Sporenbildung. Journ. Coll. Sci. Japan X 1896.
16) Köppen, N.: Beobachtungen über Tentakelinfusorien. Mém. Soc. Nat. Nouv. Russie, t. XIII 1888. (Russisch.)
17) Martin: Some Observations on Suctoria. Quart. Journ. Micr. Sci. LIII 1909.
18) Maupas: Contributions à l'étude des Acinétiens. Arch. Z. Exp. (1) IX 1881.
19) —: Le rajeunissement karyogamique chez les Ciliés. Arch. Z. Exp. (2) VII 1889.
20) Mitrophanow: Nouvelles recherches sur l'appareil nucléaire des Paramécies. Arch. Z. Exp. (4) I.
21) Plate: Untersuchungen einiger an den Kiemenblättern des Gammarus pulex lebenden Ectoparasiten. Zeitschr. Wiss. Zool XLIII 1886.
22) Sand: Les Acinétiens. Ann. Soc. Belg. Micr. XIX 1895.
23) —: Les Acinétiens d'eau douce en Belgique. Ibid. XX 1896.
24) —: Étude monographique sur le groupe des Infusoires tentaculifères. Ibid. XXIV 1899, XXV 1899, XXVI 1900.
25) Schewiakoff: Über einige ecto- und entoparasitische Protozoen der Cyclopiden. Bull. Soc. Nat. Moscou (2) VII 1893.
26) —: Über die Natur der sogenannten Excretkörner bei den Infusorien. Zeitschr. Wiss. Zool. LVII.
27) Stein: Die Infusionstiere nach ihrer Entwicklungsgeschichte untersucht. Leipzig 1854.
28) —: Der Organismus der Infusionstiere. I. Abt. Leipzig 1859, II. Abt. Leipzig 1867.
29) Swarczewsky: Über Knospenbildung bei Acineta gelatinosa. Biol. Centralbl. XXVIII 1908.
30) Wrzesniowski: Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien. Zeitschr. Wiss. Zool. XXIX 1877.

Tafelerklärung.

Tafel VIII.

ä. p. = äußere Pellicularmembran der Bruthöhle.
a. z. = sogenannte adorale Zone des Sprößlings.
B. = Bauchseite.
B. pl. = Basalplatte des Stieles.
b. r. = dunkler gefärbter Strang, der als Boden der primitiven Bruthöhle dient.
ci. = Cilien.
c. v. = contractile Vacuole.
d. P. = dunkleres Plasma bei dem Tentakelfortsatze.
e. r. = elastischer Ring auf dem Tentakelende.
E. St. = *Epistylis*-Stiel.
H. = Hinterseite.
i. F. = innere Fortsätze der Tentakel.
i. k. = innerer Kanal des Tentakels.
i. p. = innere Pellicula der Bruthöhle.
k. = Macronucleus.
k. T. = kürzere Tentakel.
K. v. = helle Höfe im Kern (Vacuolen?).
l. T. = längere Tentakel.
Mi. = Micronucleus.
N. k. = Ernährungskörper.
pe. = Pellicula.
pe. K. = Pellicula des Körpers.
pe. T. = Pellicula des Tentakels.
p. k. = Plasmakugel am Ende des Tentakels.
pl. = plasmatischer Inhalt des Tentakels.
R. = Rückenseite.
Sch. = Schwänzchen, das von der Verbindungsbrücke zweier Tochterkerne übrig geblieben ist.
S. c. v. = seitliche contractile Vacuole.
Snf. = Saugnapf.
St. = Stiel.
V. = Vorderseite.
V. c. v. = vordere contractile Vacuole.

Die Figuren 1—4, 7, 8 A, 10, 12—20, 22—23 sind nach lebenden Objekten gezeichnet, die Figuren 5, 6, 9 A, 21 nach Schnitten mit Heidenhain'scher Färbung, die Figuren 8, 9, 11 nach Totalpräparaten, die Figuren 24—29 sind schematisch auf Grund von Skizzen nach dem lebenden Objekt angefertigt.

Fig. 1. *Tocophrya quadripartita* von der Seite gesehen. Leitz Obj. 6 Oc. 3, etwas schematisiert.

Fig. 2. Ende eines Tentakels im ausgestreckten Zustande. Zeiss Obj. $^{1}/_{12}$'', Comp. Oc. 12, zweimal vergrößert.

Fig. 3. Dasselbe nach Einstülpung der Plasmakugel, bei derselben Vergrößerung.

Fig. 4a—c. Verschiedene Formen der Contraction von Tentakeln, schematisch. Leitz 1/16", Oc. 3.

Fig. 4d. Stelle der Befestigung des Stieles am Körper. Leitz Obj. 1/16", Oc. 3.

Fig. 5. Schnitt durch die Eintrittsstelle der Tentakel in den Körper. Leitz 1/16"; Oc. 3.

Fig. 6. Schräger Längsschnitt; der Micronucleus ist zu sehen. Leitz 1/16", Oc. 3.

Fig. 7. Normaler Kern im lebenden Zustande. Zeiss 1/12", Comp. Oc. 12.

Fig. 8. Beim Hungern gebildetes Kernkörperchen von mächtiger Größe. Delafield'sches Hämatoxylin, Leitz 1/16", Oc. 3.

Fig. 8A. Kern einer hungrigen Suctorie. Zeiss 1/12", Comp. Oc. 12.

Fig. 9. „Teilungsspindel" aus einem nach Heidenhain gefärbten Totalpräparat. Leitz 1/16", Oc. 3.

Fig. 9A. Schnitt durch den Kern einer kräftigen Suctorie, zur Demonstration der hellen Kernräume. Leitz 1/16", Oc. 3.

Fig. 10. Kern nach der Teilung; es ist noch ein Rest der Verbindungsbrücke zwischen beiden Kernen zu sehen. Leitz 1/16, Oc. 3.

Fig. 11. Ende der Kernteilung; die faserige Struktur ist noch in der die Kerne verbindenden Brücke erhalten. Boraxkarmin. Leitz 1/16", Oc. 3.

Fig. 12. Cyste. Leitz 1/16", Oc. 1.

Fig. 13. Parasiten aus der Gattung *Tachyblaston*. Leitz Obj. 6, Oc. 1.

Fig. 14. Embryo von der Seite gesehen. Leitz 1/16", Oc. 1.

Fig. 15. Dasselbe von der Bauchseite gesehen, bei derselben Vergrößerung.

Fig. 16. Dasselbe von der Rückenseite gesehen, bei derselben Vergrößerung.

Fig. 17. Dasselbe von hinten gesehen, bei derselben Vergrößerung.

Fig. 18. Erste Einstülpung, der „Saugnapf" ist noch nicht nach innen verlagert. Leitz 1/16", Oc. 1.

Fig. 19. Abnormer Fall einer Abscheidung der Tentakel vor derjenigen des Stieles. Leitz 1/16", Oc. 1.

Fig. 20. Der Saugnapf hat sich endgültig eingestülpt; die Wimpern sind nicht abgebildet. Leitz 1/16", Oc. 1.

Fig. 21. Schräger Längsschnitt durch den Körper der Suctorie; zu sehen ist die Struktur des Kernes und die Bildung der Wimpern. Leitz 1/16", Oc. 3, projiziert auf Objekttischhöhe.

Fig. 22. Ein bereits festsitzender Embryo hat einen Stiel abgeschieden und beginnt auch die Tentakel abzuscheiden; die Wimpern sind noch erhalten.

Fig. 23. Dasselbe, ein etwas späteres Stadium.

Fig. 24—29. Die Umstülpung des Infusors nach Abscheidung der Tentakel. Schematische Vergrößerung etwa 800 mal.

Fig. 24. Etwas späteres Stadium als auf Fig. 23.

Fig. 25—27. Umstülpung.

Fig. 28. Veränderung der Gestalt.

Fig. 29. Beginn der Umwandlungen des Kernes.

Die Entwicklung von *Theileria parva*, dem Erreger des Küstenfiebers der Rinder in Afrika.

Von
Dr. **Richard Gonder**, zurzeit in Transvaal.

(Hierzu Tafel IX—XIII und 1 Textfigur.)

I. Teil.

In einer vorläufigen Mitteilung vom Ende April dieses Jahres (Berl. Tierärztl. Wochenschr., Juli 1910, und Supplement to the Annales of the Transvaal Museum: Proceedings of the Biological Society, Pretoria, 1910) berichtete ich bereits in aller Kürze über den Entwicklungsgang des Ostküstenfiebererregers Afrikas in den Organen der Rinder. Kurz zusammengefaßt legte ich in diesen Publikationen dar, daß erstens die leicht zu verwechselnden Blutparasiten der Rinder Afrikas, *Babesia mutans* und *Theileria parva* (*Pir. parvum*, *Babesia parva* siehe nächsten Abschnitt) nicht identisch sind, und letzterer der Erreger des Ostküstenfiebers ist, und zweitens, daß dieser Parasit, bevor er im Blute der erkrankten Rinder auftritt, in den Organen, besonders in den Lymphdrüsen und in der Milz eine bestimmte Entwicklung durchmachen muß. Die vermittels einer Punktion immer leicht nachweisbaren Entwicklungsformen von *Theileria parva* in den Organen stellen sich als die sogenannten „Koch's Kugeln, Granula oder Plasmakugeln", dar. Bestimmte Stadien dieser letzteren liefern charakteristische Formen, aus denen durch Zerfallteilung die bekannten Küstenfieberparasiten hervorgehen, die sich dann im Blute zeigen.



Da ich diese Darlegungen durch weitere Experimente und eingehendere Studien im Veterinary Bacteriological Laboratory in Transvaal vollauf bestätigen konnte, will ich versuchen, im folgenden im Anschluß an eine Reihe von Zeichnungen und Mikrophotographien ein genaueres Bild über den Entwicklungsgang des Ostküstenfiebererregers zu geben. Abgeschlossen sind allerdings derartige Untersuchungen niemals, sondern sie zeigen natürlicherweise noch viele Lücken.

Was die Benennung des Ostküstenfiebererregers belangt, so machte ich auch schon in den vorläufigen Mitteilungen auf die Änderung des Namens *Babesia parva* (*Pir. parvum*) aufmerksam, welche bereits BETTENCOURT, FRANCA und BORGES vorgenommen hatten. Wie aus späterem hervorgehen wird, ist unser Parasit sowohl biologisch, als auch morphologisch von den Babesien so verschieden, daß wir nicht umhin können, ihn von der Gattung *Babesia* zu trennen. THEILER hatte bereits auf die biologischen Unterschiede aufmerksam gemacht, als er *Babesia bigeminum* und *mutans* (*Pir. bigeminum* und *mutans*) und *Theileria parva* (*Pir. parvum*) voneinander trennte. Biologische Eigenheiten können nicht zur Trennung von verschiedenen Parasitengattungen herangezogen werden. Sonst müßten wir auch u. a. eine beträchtliche Zahl von Trypanosomenstämmen einer und derselben Art systematisch voneinander trennen. Daher änderte THEILER den Namen noch nicht. BETTENCOURT, FRANCA und BORGES waren die ersten, die aus morphologischen Gründen für *Babesia parva* eine andere Bezeichnung, *Theileria parva*, einführten, eine Benennung, die auch schon von anderen Autoren (NUTTAL, SMITH, FANTHAM usw.) akzeptiert wurde. Es muß jedoch gesagt werden, daß BETTENCOURT und seine Mitarbeiter seinerzeit noch nicht genügend Anhaltspunkte hatten, um einen neuen Gattungsnamen aufstellen zu können. Denn die Größe, die bei den Plasmodiiden und Piroplasmiden an und für sich je nach dem Entwicklungsstadium beträchtlich schwankt, und die Bildung der Kreuzformen konnten nicht ausschlaggebend sein. Außerordentlich kleine Parasiten finden wir bei *Babesia mutans*, bei *Achromaticus vesperuginis*, der zudem auch Kreuzformen bildet, und bei gewissen Blutparasiten der Affen, welche alle in die Nähe der Küstenfieberparasiten zu stellen sind. Das Charakteristische unseres Parasiten ist dagegen sein Entwicklungsgang, der für die systematische Stellung auch maßgebend sein wird, den aber BETTENCOURT und seine Mitarbeiter noch nicht gekannt hatten. *Theileria parva*, wie ich also nach dem Vorschlag der eben genannten Autoren den Ostküsten-

fiebererreger auch benennen werde, macht in den Organen der Rinder eine charakteristische und für die Krankheitsdiagnose ungemein wichtige Entwicklung durch, welche geradezu spezifisch für den Parasiten ist und welche bei *Babesia*-Erkrankungen nicht nachgewiesen werden konnte. Die Einwände, welche M. Mayer (Hamburg) hinsichtlich dieser Entwicklungsformen, der sogenannten Koch's Kugeln machte, als nicht spezifisch für das Küstenfieber, entbehren einer genügenden Untersuchung und konnten auch bis jetzt von anderer Seite in keiner Weise bestätigt werden. Dadurch, daß ich lebend Zerfall bestimmter Koch's Kugeln in eine Menge typischer Küstenfieberparasiten verfolgen konnte, wird überhaupt die Ansicht M. Mayer's, vielleicht Reaktionsprodukte oder dergleichen vor sich zu haben, hinfällig; möge es auch hier und da, ich glaube diese Fälle sind außerordentlich selten, bei Babesienerkrankungen zu Reaktionsprodukten kommen, die bei Trockenfixierung und Giemsa-Färbung unter Umständen mit gewissen Formen aus dem Entwicklungsgang von *Theileria parva* verwechselt werden könnten.

Robert Koch war der erste, welcher das Küstenfieber der Rinder in Afrika als eine Krankheit sui generis erkannte und auch den Erreger *Theileria parva*, sowie dessen charakteristische Entwicklungsformen in den Organen beschrieb und abbildete. Nach ihm konnte Theiler durch eine Reihe ausgezeichneter Experimente die verschiedenen Zeckenarten feststellen, welche speziell für den südafrikanischen Kontinent in Betracht kommen, und im Anschluß daran genauere Angaben über Inkubation der Krankheit und über die Biologie der Zecken machen. Unabhängig von ihm kam Lounsbury zu den gleichen Resultaten, Theiler gelang es dann außerdem, über den Erreger *Theileria parva* und einen ihm morphologisch, soweit es die Formen in den Blutkörperchen betrifft, sehr ähnlichen Parasiten *Babesia mutans*, den Koch seinerseits noch nicht erkannt hatte, wichtige Aufschlüsse zu geben. Theiler suchte durch seine Experimente, die bis zum heutigen Tage in umfangreichster Weise fortgesetzt wurden, zu beweisen, daß die beiden eben genannten Parasiten biologisch grundverschieden sind, der eine, *Babesia mutans* durch Blut übertragbar, mehr oder weniger häufig in dem Blute afrikanischer Rinder angetroffen wird, der andere, *Theileria parva*, mit Blut nicht übertragbar, das Küstenfieber hervorruft. In neuester Zeit gelang es Theiler ferner, einen weiteren Parasiten von *Babesia bigeminum*, *mutans* und *Theileria parva* zu trennen, nämlich *Anaplasma marginale*, über dessen parasitäre Natur eingehendere Untersuchungen noch erforderlich sind. *Anaplasma marginale*, unter

dem Namen **marginal points** bekannt, soll nach THEILER in den Rindern eine schwere, oft zum Tode führende Anämie hervorrufen. *Anaplasma* wird von THEILER als ein durch seinen Parasitismus stark rückgebildeter Organismus aufgefaßt, der seine Organellen und sein Plasma verloren hat, also phylogenetisch einer der ältesten Piroplasmiden vorstellen würde. — Daß es also bei den vielen Infektionen, denen die afrikanischen Rinder ausgesetzt sind, geraume Zeit dauerte, bis größere Klarheit in das Wesen und die morphologischen Verschiedenheiten aller dieser Erreger gebracht werden konnte, ist leicht verständlich.

Die große Ähnlichkeit, die *Babesia mutans* mit *Theileria parva* (im Blute) miteinander haben, und ferner die absolut sterilisierende Immunität vor allem, welche das Küstenfieber hinterläßt, veranlaßten FÜLLEBORN und OLLWIG, an *Theileria parva* als dem Erreger zu zweifeln, und *Theileria parva* und *Babesia mutans* für identisch zu erklären. Sie betrachten das Küstenfieber, wie heute alle, die sich eingehender mit dieser Krankheit beschäftigt haben, als eine von Piroplasmose ganz verschiedene Krankheit, welche aber (und hierin stehen sie im scharfen Widerspruch zu den meisten übrigen Autoren) ähnlich dem Gelbfieber, dem Papadatschifieber und anderen durch Insekten übertragbaren Krankheiten einen **invisiblen** Erreger haben könnte. Bereits vor ihnen hatte ROBERTSON in der Cape die gleiche Ansicht eines invisiblen Erregers vertreten, weil er Küstenfieberfälle beobachten konnte, bei welchen im Blute keine Parasiten nachweisbar waren. Da die früheren Experimente stets nur an afrikanischen Rindern angestellt und somit *Piroplasma mutans*-Infektionen nicht auszuschließen waren, konnten letztere Autoren ihre Meinung behaupten.

In meiner vorläufigen Mitteilung habe ich bereits Experimente angeführt, die einwandfrei bewiesen, daß *Theileria parva* und *Babesia mutans* nicht identisch sein können. THEILER wiederholte das gleiche Experiment an englischen Rindern mit dem gleichen Resultat. Wie ich von ihm hörte, hatte STOCKMANN in England mit seinen Experimenten ebendenselben Erfolg.

Piroplasma mutans **ist mit geringen Blutmengen von einem Rind zum anderen leicht zu übertragen, dagegen *Theileria parva* in seiner Form als endoglobulärer Blutparasit niemals.**

Auf die Entwicklungsformen in den Organen, die sogenannten KOCH's Kugeln, Granula, Plasmakugeln, machten dann KLEINE, LICHTENHELD, THEILER und WALKER besonders als Hilfsmittel in der

Diagnostizierung von Küstenfieber aufmerksam. Lichtenheld, der auch Unterschiede unter diesen Formen machte, Kleine und Walker halten an der Spezifität dieser Kugeln fest, sie vertreten dabei die Ansicht, daß die Kugeln bestimmte Entwicklungsformen von *Theileria parva* vorstellen, konnten jedoch hierfür noch nicht den Beweis bringen.

Im Anschluß hieran muß einiges über die transkaukasische, tropische Piroplasmose und die sogenannte Bitter'sche Piroplasmose der Rinder in Ägypten gesagt werden. Bekanntlich beschrieben Dschunkowsky und Luhs eine schwere Erkrankung der Rinder in Transkaukasien, bei welchen sie zwei Formen, eine akut und eine chronisch verlaufende kachektische Form, unterscheiden. Gestützt auf die Ausführungen Theiler's auf dem internationalen Veterinärkongreß zu Haag und gestützt auf die Abbildungen (der ersten Veröffentlichung) und Beschreibungen von Dschunkowsky und Luhs glaube ich mit Theiler auf Doppelinfektionen schließen zu müssen. Auf einer Tafel der Mitteilung von Dschunkowskx und Luhs sind unzweideutig die von Theiler als *Anaplasma marginale* beschriebenen Körperchen abgebildet, so daß also Anaplasmosis vorhanden ist. Hämoglobinurie und *Babesia bigeminum* sind ebenfalls beschrieben worden. Höchstwahrscheinlich wird auch *Babesia mutans* im Blute der Rinder Transkaukasiens vorkommen; mithin werden also ähnliche Verhältnisse daselbst vorliegen, wie hier in Afrika. — Über das Vorkommen der das Küstenfieber übertragenden Zeckenarten in Transkaukasien müßten noch genauere Mitteilungen gemacht werden. Dschunkowsky und Luhs erwähnen *Rhipicephalus sanguineus* und *bursa*. Sollten noch andere Zecken dieser Gattung *Rhipicephalus* vorkommen, so kann also Küstenfieber nicht ausgeschlossen werden. Nach Durchsicht von Blutausstrichen von transkaukasischen Rindern, die ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Dr. Theiler verdanke, muß ich zugeben, daß die von Dschunkowsky und Luhs als Erreger der tropischen Piroplasmose beschriebenen Parasiten, *Pir. annulatum*, sich von *Theileria parva* durch die typische Ringform unterscheiden. Bei *Theileria parva* kommen allerdings auch Ringformen vor, aber nicht in der großen Zahl und mehr zu Anfang der Erkrankung. Auch die pathologisch-anatomischen Verhältnisse, die Bildung von Hämorrhagien an Zunge und an den Augen deuten auf eine von Küstenfieber etwas verschiedene Krankheit hin, vielleicht handelt es sich nur um eine Varietät des Küstenfiebers, hierfür spricht das Vorkommen der Koch's Kugeln. (Nach mündlichen und schriftlichen Mitteilungen von anderer Seite sollen Koch's Kugeln bei dieser Krankheit vorkommen.)

Doppelinfektionen aller oben genannten Parasiten begegnet man hier in Afrika gar nicht selten, ja dies ist sogar das gewöhnliche. Wenn es DSCHUNKOWSKY und LUHS gelingen sollte, diese Parasiten durch Zecken und künstliche Übertragung voneinander zu trennen, wie dies THEILER gelungen ist, und somit Reininfektionen jedes einzelnen Parasiten zu erzielen, wird über die transkaukasische Piroplasmose und ihren Erreger, *Pir. annulatum*, eher zu diskutieren sein. Ebendasselbe gilt von der BITTER'schen Piroplasmose in Ägypten und der von DUCLOUX beschriebenen *Piroplasmose bacilliforme* in Tunis.

Material und Untersuchungsmethoden.

Das Rindermaterial, welches für die Experimente und parasitologischen Untersuchungen benutzt wurde, stammte zum Teil direkt aus England, also von Rindern, bei welchen *Babesia mutans*, *Theileria parva* und *Anaplasma marginale* ausgeschlossen waren, und zum Teil aus küstenfieberfreien Gegenden Südafrikas. Ferner wurden junge, auf der Station des hiesigen Instituts geborene Kälber verwendet, die, um etwaige Infektionen auszuschließen, streng isoliert wurden und unter besonderer Aufsicht standen. Ebenso einwandfreies Material lieferten mir junge, auf der Station geborene Kälber, welche THEILER bei seinen Immunisierungsversuchen als Kontrolltiere benutzte. Es war also möglich, eine beträchtliche Zahl von rein mit *Theileria parva* infizierten Rindern für die parasitologischen Studien zu verwenden. Soweit es diese betraf, stand auch mir das gesamte übrige Küstenfiebermaterial des hiesigen Instituts zur Verfügung. Auch hatte ich Gelegenheit, eine Reihe von auswärts eingesandten Blut- und Organpräparaten von erkrankten und verendeten Rindern zu untersuchen.

Um bei natürlichen Infektionen mit Zecken stets sicher zu gehen, wurde von den Rhiphicephalusarten nur *Rhipicephalus appendiculatus* verwendet, da diese Zecke hier in Südafrika in 100 Proz. sozusagen Küstenfieber überträgt. *Rhipicephalus evertsi*, welche zu Anfang nur soweit es das Studium der Weiterentwicklung in der Zecke verlangte, ebenfalls mit benutzt wurde, schaltete ich bei den Übertragungsversuchen aus.

Die Küstenfieberparasiten werden bekanntlich nicht wie bei *Babesia bigeminum* in der Zecke durch das Ei vererbt. Aus Eiern

aufgezogene Larven waren also, wenn zuvor die Zecke nicht mit *Babesia bigeminum* oder *Spirochaeta Theileri* infiziert war, einwandfrei. Es war mir möglich, solches gesondertes Material zu erhalten und *Rhipicephalus appendiculatus* auf dem Larven- und Nymphenstadium zu infizieren.

Das erste Experiment wurde an einem vollkommen einwandfreien englischen Rind ausgeführt, und zwar mit ausgebildeten Zecken von *Rhipicephalus appendiculatus*, von denen ich nach den Angaben THEILER's annehmen durfte, daß sie ausschließlich mit *Theileria parva* infiziert waren. Daß dies der Fall war, bewiesen mir die folgenden Experimente. Dieses englische Rind, nicht immun gegen Redwater, erkrankte an typischem Küstenfieber und erlag auch dieser Krankheit. Eine Blutübertragung auf ein zweites englisches, gegen Redwater nicht immunes Rind löste weder eine *Babesia bigeminum*-Infektion, noch eine solche mit *Babesia mutans* oder anderen durch Blut übertragbaren Parasiten aus. An das erste englische Rind wurden dann einige tausend Zeckenlarven und -nymphen zur Infektion angesetzt, so daß also für weitere Experimente genügend Material vorhanden war.

Bei den mikroskopischen Untersuchungen wurde der Entwicklungsgang, soweit es möglich war, am lebenden Objekt verfolgt. Da die Entwicklungsstadien in den Organen mit Ausnahme der in Zerfall begriffenen wegen ihrer Bewegungslosigkeit wenig Interessantes bieten, lenkte ich meine Aufmerksamkeit bei diesen Formen in der Hauptsache auf die Schizogonie der KOCH's Kugeln, die ich dann auch öfters verfolgen konnte. Auch die Parasiten im Blute, mit welchen die Entwicklung von *Theileria parva* im Rinde einen gewissen Abschluß erreicht, sind außerordentlich klein und sehr träge in ihren Bewegungen, so daß die lebende Beobachtung nur wenig über Morphologie und Biologie zu erschließen vermag; anders liegen die Verhältnisse in der Zecke, in welcher es zur Copulation und Bildung von beweglichen Ookineten kommen muß.

Zur schnellen Orientierung über Infektion, resp. über den Grad der Infektion, sowohl was Zahl, als auch Entwicklungsstadien betrifft, wurde die übliche Trockenfixierung und die GIEMSA-Färbung verwendet, und dann, je nachdem diese Untersuchung Besonderes zeigte, für cytologische Studien lebend beobachtet, feucht fixiert und mit den verschiedensten Lösungen gefärbt. Wenn ein Rind auf der Höhe der Krankheit getötet wurde oder der Krankheit erlag, wurden Organstücke in Paraffin eingebettet und die Parasiten in den Schnitten untersucht.

Sehr gute Dienste leistete mir die Giemsa-Färbung nach feuchter Fixierung mit konzentrierter Sublimatlösung. Auf Deckglasausstrichen und in den Schnitten traten bei dieser Fixierung und Färbung sehr schön die beiden Generationen hervor, die ich nach Hartmann als agamogene und gamogene bezeichnete. Bei Trockenfixierung treten die Kernunterschiede dieser beiden Generationen nicht immer so klar auf. Die Schaudinn'sche Lösung, Sublimat-Eisessig-Alkohol und darauffolgende Färbung mit Hämatoxylingemisch von Heidenhain, Delafield und Ehrlich sind ganz besonders zum Studium dieser Kernverhältnisse zu empfehlen. Als weitere Fixierungsflüssigkeiten, ebenso brauchbar wie die schon genannten, benutzte ich Flemming's und Hermann's Gemisch und für die hämolymphatischen Drüsen und Lungenstückchen ein Gemisch, das ich dem kürzlich verstorbenen Herrn Dr. lo Bianco verdanke, Flemming (stark) und Formol (konz.) 1:1. In letzterem Gemisch sind die Stückchen nur kurz zu fixieren, dann in Wasser gut auszuwaschen und in Alkohol aufzubewahren. Weniger Erfolg hatten bei der Färbung Borrel's und Mallory's Gemisch. Als geeignete Lösungen zur Vitalfärbung sind noch 1 proz. Neutralrot, Methylgrün und Methylenblau zu erwähnen. Die Parasiten treten in den Drüsen und anderen Organen so deutlich hervor, daß eine Vitalfärbung nur nötig sein wird bei Anwendung von Reagentien, wie Chinin oder dergleichen. Drüsen- und Milzsaft sind leicht durch Punktion vermittels einfacher Pravatzspritze zu erhalten. Nicht selten nimmt die Spritze auch kleine Organstückchen auf, welche besonders gut für die Untersuchungen geeignet sind.

Zeugungskreis von *Theileria parva.*

In der Zecke *Rhipicephalus appendiculatus* konnte ich bisher nur die Bildung von Ookineten lebend verfolgen. Ich hoffe aber noch die Copulation nachweisen zu können. Jedenfalls steht eine Weiterentwicklung in der Zecke fest, denn außer charakteristischen Formen in dem Magen der Zecke, von denen ich nur nicht sagen kann, ob sie Microgameten oder Macrogameten sind, habe ich auch äußerst kleine Parasiten in den Speicheldrüsen der Zecken gefunden, die oft in großen Haufen anzutreffen waren. In gereinigten Zecken sowohl, als auch in nicht infizierten Zecken fand ich diese Formen niemals. Ich glaube annehmen zu dürfen, hier die Sporozoiten vor mir zu haben. Auch finde ich diese kleinen Formen erst nach geraumer Zeit in den Zecken, und zwar nach der Umwandlung zur

Nymphe, wenn die Larve infiziert wurde, oder zur ausgebildeten Zecke, wenn die Nymphe infiziert wurde, also zu einer Zeit, in welcher die Zecke wieder einen Wirt aufsucht. Kommt die infizierte Zecke an ein gesundes Rind, so wird dasselbe infiziert. Es gelang mir niemals, diese Formen in dem Körper der Rinder nachzuweisen. Auch konnte ich nicht intrakutan, intralymphal oder auf anderem Wege mit Emulsionen von Speicheldrüsen und Mageninhalt der Zecken infizieren. Eine Erklärung war mir hierfür nicht möglich. Vielleicht stehen hiermit Temperaturverhältnisse in Zusammenhang. Oder es ist auch eine Weiterentwicklung dieser von mir als Sporozoiten bezeichneten Formen in der Zecke möglich, sobald sie frisches Blut aufnimmt.

Die Zecke, welche je nach dem Grade der Außentemperatur schneller oder langsamer anbeißt und demgemäß auch kürzer oder länger an dem Tier haften bleibt, bis sie vollgesogen ist, reinigt sich vollständig von ihrer Infektion. Zur Reinigung ist nicht gerade ein Rind nötig, sondern es kann hierzu ein anderes Tier, z. B. ein Schaf oder ein Kaninchen, benutzt werden. Mit *Theileria parva* infizierte Zecken, welche zum Teil an einer Kuh und zum Teil an einem Kaninchen gereinigt wurden, konnten später kein Ostküstenfieber mehr hervorrufen. (Mehrere Experimente!)

Die ersten Formen, welche man im Rinde vorfindet, sind meistens kleine extraglobuläre, runde Gebilde mit einem einzigen Kern ausgestattet. Bei sorgfältiger Musterung von Präparaten kann man manchmal schon am 12. Tage, nachdem die Zecken sich festgebissen haben, in den Lymphdrüsen oder in der Milz diese Formen finden. In den darauffolgenden Tagen findet man auch diese intracellulär in den großen mononucleären Lymphocyten. Der Parasit nimmt bald an Größe zu, die Zahl der Kerne vermehrt sich ganz beträchtlich, und schließlich zerfällt der Parasit in ebenso viele Teilprodukte, als Kerne vorhanden sind. Dies ist der gewöhnliche Gang; bei den intracellulären zerfällt häufig die Wirtszelle, der Lymphocyt, früher als der Parasit. Es kann dann zu unregelmäßigen Teilprodukten kommen, und zwar in der Weise, daß die einzelnen Teilprodukte, Merozoiten oder besser zur Unterscheidung einer anderen Generation Agameten genannt, mit zwei, drei oder mehr unregelmäßig geformten Kernen ausgestattet sind. — Diese Entwicklung kann sich wiederholen.

Aus dieser agamogenen Generation — ungeschlechtlich oder asexuell möchte ich nicht sagen, da von Anfang an sexuelle Unterschiede bestehen können — geht eine zweite Generation hervor, die

ich als gamogen bezeichnete. Durch Zerfallteilung eines Agamonten werden bestimmte Formen frei, die sich von den oben erwähnten Agameten durch ihre regelmäßiger geformten und kompakteren Kerne auszeichnen. Man findet diese Formen, Gamonten, gewöhnlich kurz bevor die bekannten Parasiten des Küstenfiebers im Blute auftreten, durchschnittlich am 18. Tage nach der Infektion. Die Kerne dieser gamogenen Formen nehmen Farbstoffe viel intensiver auf als diejenigen der agamogenen. Auch diese Parasiten trifft man sowohl frei, als auch intracellulär vor. Der junge einkernige Gamont nimmt von einem Tage zum anderen sehr rasch an Größe zu, zerfällt aber auch häufig, besonders wenn er extraglobulär ist, ohne beträchtliche Größe erreicht zu haben, in so viele Teilprodukte, als Kerne vorhanden waren. Die intracellulären Gamonten liefern, wenn nicht der befallene Lymphocyt früher zugrunde geht, eine weit größere Zahl von Parasiten. In einem späteren Abschnitt werde ich diese Tatsache zu erklären versuchen. Die aus dem Gamonten hervorgehenden Parasiten repräsentieren die in die Blutkörperchen eindringenden und als Ostküstenfiebererreger bekannten Parasiten. Mit der Bildung dieser Formen, der Gametocyten, erreicht die Entwicklung des Parasiten im Rinde einen gewissen Abschluß. Häufig kommt es vor, daß noch nicht ausgebildete Gametocyten, also noch Gamonten, die Blutkörperchen befallen und sich erst in diesen zu Gametocyten weiterentwickeln. Hieraus erklärt sich, daß andere Autoren von einer Zweiteilung, überhaupt von einer Vermehrung im Blute der Rinder sprechen. Auch die Bildung von Kreuzformen, welche normalerweise in den Organen bei der Zerfallteilung vor sich geht, kann, wenn noch nicht ausgebildete Gametocyten, oder besser Gamonten, die Blutkörperchen befallen, gelegentlich auch im Blute verfolgt werden. Von einer eigentlichen Vermehrung im Blute jedoch kann man nicht reden.

Die Tatsache, daß in den sogenannten gesalzenen, gegen Küstenfieber immunen Rindern keine Parasiten mehr nachzuweisen sind und auch bei diesen niemals bis jetzt Rezidive beobachtet werden konnten, beweist, daß die Parasiten nach bestimmter Zeit zugrunde gehen müssen und sich nicht mehr durch Parthenogenese rückbilden können. Auch die Unmöglichkeit, Küstenfieber vermittels Blut zu übertragen, ist ein Umstand, welcher gegen eine Weiterentwicklung im Blute spricht. Rinder, welche die Krankheit überstehen, zeigen auf der Höhe ihrer Erkrankung agamogene und gamogene Formen. Die agamogenen verschwinden dann sehr bald. Wenn die Zahl der Parasiten im Blute geringer wird, so nimmt auch die Zahl der

gamogenen Formen in den Organen ab, d. h. mit dem Verschwinden der gamogenen Formen in den Organen, Lymphdrüsen und Milz usw. hört auch eine Weiterentwicklung der Parasiten im Tierkörper auf.

Gelangen diese Gametocyten in den Magen einer Zecke, so geht dort die Bildung der Gameten vor sich. Es kommt zur Copulation von Micro- und Macrogameten (noch nicht bewiesen) und zur Ausbildung von beweglichen Ookineten, aus welchen schließlich die ersterwähnten, Sporozoiten genannten Formen hervorgehen müssen.

Die agamogene Generation.

Will man ein klares Bild über die Entwicklung der aufeinanderfolgenden Stadien unseres Parasiten gewinnen, so ist dies bei Beginn der Krankheit am besten möglich. Das Küstenfieber macht sich zuerst durch ein von Tag zu Tag langsam ansteigendes Fieber bemerkbar. Auf der Höhe der Krankheit und kurz vor dem Tode sind die Organe, besonders Lymphdrüsen, häufig so überschwemmt von allen möglichen Entwicklungsstadien, daß eine Klarheit über den Lebenscyclus nur schwer zu erlangen ist. Dazu kommt noch der Zerfall der infizierten Lymphocyten. Ich gelangte erst zu guten Resultaten, als ich systematisch Tag für Tag die verschiedenen Lymphdrüsen (glandula cervicalis superficialis, glandula praecruralis) abwechselnd und, soweit es möglich war, auch die Milz punktierte.

Zuerst treten meist einkernige, extraglobuläre, mit wenig Protoplasma ausgestattete Formen auf. Der Kern dieser jüngsten Agamonten hat eine unregelmäßige, bröckchenartige Form, besitzt keine Kernmembran und ist auch nicht gegen das Protoplasma durch irgend eine gleichmäßiger strukturierte Plasmahülle abgegrenzt. Im Kern liegen manchmal 1—2 die Kernfarbstoffe intensiver aufnehmende Körnchen, die ich für das Caryosom halte. Im allgemeinen zeigt der Kern, und das gilt auch für die weiter fortgeschrittenen Formen, ein merkwürdig gleichmäßig strukturiertes, gegen Kernfarbstoffe keine große Affinität besitzendes Wabenwerk. Erst wenn der Agamont im Zerfallen begriffen ist, treten mehr oder weniger deutlich stärker tingierte Chromatinkörner auf. Diese Körner sind immer vorhanden, wenn es zur Bildung der nächsten, gamogenen Generation kommt.

Der Agamont nimmt an Volumen zu und die Zahl seiner Kerne wird dabei größer. Die Kernvermehrung, welche mit dem Wachstum des Parasiten gleichen Schritt hält, erfolgt amitotisch gewöhnlich durch successive Teilung (vgl. Taf. IX Fig. 1—9 u. 12—17). Auf Schnitten und in feucht fixierten Deckglasausstrichen konnte ich

ausnahmsweise eine Andeutung von primitiver Mitose wahrnehmen, wie wir sie ähnlich bei Coccidien und Hämogregarinen (*Caryolysus*) wiederfinden (Textfig. A). An den Polen des Kernes kommt es zur Ansammlung von stärker färbbaren Chromatinbestandteilen. Die Kernteilung wird durch das Caryosom vollzogen, das die beiden Teilprodukte auseinanderstemmt. Wie gesagt, konnte ich diese Art von Teilung nur sehr selten feststellen. Häufig schien es mir, als ob der Kern oder besser die verschiedenen Kernbrocken in zwei oder drei Teilprodukte zerfielen. Von anderen parasitisch lebenden Protozoen, den Opaliniden, kennen wir ebenfalls derartige Zerfallerscheinungen von Kernbrocken. Auch bei *Haemoproteus columbae* finden wir ähnliche Verhältnisse bei den agamogenen Formen in derLunge und der Leber. Durch successive Kernteilung erhält der kugelförmige Parasit eine sehr beträchtliche Zahl von Kernen, die manchmal (allerdings selten) 70—80 übertrifft. Die Kerne sammeln sich an der Oberfläche des Parasiten an, wodurch die bekannten Brombeerformen und kurz vor Zerfall die Stechapfelformen entstehen (LICHTENFELD). Schließlich teilt sich der Parasit in eine Menge unregelmäßig geformter Tochterindividuen auf (Taf. IX Fig. 1 u. 19, Taf. XII Fig. 3c u. 4b).



Textfig. A.
Kernteilung.
Imm. 2 mm.
Comp. Oc. 18.

Die aus dieser Schizogonie hervorgehenden Agameten zeigen gar nicht selten einen zweiten Kern. Die Bildung dieses zweiten Kernes, gleichsam eines Blepharoplasten, wird für die systematische Stellung von *Theileria parva* von Wichtigkeit sein. Gut ausgeprägt finden wir ihn niemals, auch nicht mehr später bei den übrigen Entwicklungsformen. Wir haben demnach ähnliche Verhältnisse wie bei *Haemoproteus* und den Malariaparasiten des Menschen, bei welchen ein zweiter Kern auch nur selten gebildet wird. Das zeitweilige Auftreten eines zweiten Kernes deutet also auf eine Verwandtschaft mit Flagellaten hin. Die auf Taf. IX Fig. 9—11 abgebildeten großen, extracellulären Formen kommen nicht allzu häufig vor, meistenteils tritt die Schizogonie schon auf einem früheren Stadium der Entwicklung ein (Taf. IX Fig. 8).

Ganz ebenso verläuft auch die Entwicklung der intracellulären Agamonten, nur kommt es bei diesen meistens zu einer größeren Zahl von Agameten (Taf. IX Fig. 12—19, Taf. IX Fig. 7—9). Dies hat einmal darin seinen Grund, daß häufig der Lymphocyt doppelt infiziert ist (Taf. IX Fig. 16), dann aber auch die Entwicklung innerhalb des Lymphocyten sich wiederholen kann, wodurch natürlicherweise die Zahl der Agameten eine größere wird.

Geht der Lymphocyt durch den schädigenden Einfluß seines Parasiten nicht vorzeitig, d. h. noch ehe Schizogonie eintritt, zugrunde, so findet man sein Plasma durch den Parasiten vollständig eingenommen. Meistens ist mit der Zerfallteilung des Parasiten auch der Untergang des Lymphocyten bestimmt (Taf. IX Fig. 17—19). Das Alter des Lymphocyten wird bei der Widerstandsfähigkeit gegen den Parasiten eine Rolle spielen. Nicht selten findet man Kernzerfall des Lymphocyten und auch manchmal von Leucocyten, wenn dieselben mit ganz jungen Agamonten infiziert sind. Die oben erwähnten großen freien Formen (Fig. 9 u. 10), werden vielleicht auch dadurch entstanden sein, daß die Wirtszelle zugrunde ging, kurz bevor sich der Parasit zur Schizogonie anschickte.

Das Plasma aller Formen der agamogenen Generation zeigt deutlich einen alveolären Wabenbau. In nach Giemsa gefärbten Präparaten kann man bei den verschiedenen Stadien ein sich sehr hell und ein sich tief dunkelblau tingierendes Plasma unterscheiden. Möglicherweise sind hierdurch sexuelle Charaktere gekennzeichnet. Besonders bei den intracellulären Agamonten, die auf ihren jüngsten Stadien leicht mit Zellgranulationen, z. B. mit azurphilen Granulas, verwechselt werden können, zeigt sich dieser Unterschied in der blauen Färbung nach Giemsa weit ausgeprägter, so daß man hierauf sein Augenmerk richten muß, um keine Irrtümer zu begehen. Das Protoplasma des Parasiten ist gegen das Plasma der Wirtszelle immer gut abgegrenzt (vgl. Fig. 12—17). Man findet bei dem Parasiten sehr hellblaues Plasma, das sich von dem mehr dunkelblau erscheinenden Plasma des Lymphocyten abhebt. Und umgekehrt findet man auch wieder Formen, gegen welche das Plasma des Lymphocyten zurücktreten muß, weil dasjenige der Parasiten nach Giemsa tief dunkelblau erscheint. Da ich aber keine Unterschiede in den Kernen nachweisen konnte, möchte ich noch nicht von generellen Differenzierungen sprechen.

Was die Größe der agamogenen Stadien betrifft, so schwankt dieselbe, wie ja auch aus den geschilderten zu verstehen ist, ganz beträchtlich. Die jüngsten messen ungefähr 0,8—1 μ, alle übrigen von 1—10 μ, ausnahmsweise wird 10 μ überschritten. Formen, wie sie Fig 9 u. 10 wiedergeben, erreichen manchmal eine Größe von 12—15 μ.

Die gamogene Generation.

Die gamogene Generation unterscheidet sich sehr wesentlich von der vorher beschriebenen agamogenen. Vor allem ist sie auch

biologisch von ganz besonderem Interesse, als durch sie die Formen gebildet werden, mit welchen der Lebenscyclus von *Theileria parva* in dem Rinde einen sicheren Abschluß erreicht. Mit ihrer Bildung erlangt auch die Krankheit ihren Höhepunkt. Das Rind geht entweder zugrunde (hier in Südafrika zum größten Teil), oder es erholt sich wieder, dann geht der Parasit im Rinde zugrunde, und auch kein neuer findet wieder in diesem sogenannten gesalzenen Rinde einen guten Boden.

Wie vorher beschrieben, kann der Agamet, aus einem Agamonten durch Schizogonie hervorgegangen, wieder zum Agamonten werden; mit anderen Worten: die agamogene Entwicklung wiederholt sich. Der Parasit muß aber, wie alle Protozoen, nach einer bestimmten Zeit oder besser nach einer agamogenen Entwicklung zu einem für die Erhaltung seines Lebens regulatorischen Prozeß schreiten, der ihn wieder in den Stand setzt, quasi ein neues Leben zu beginnen. Dies geschieht durch die Befruchtung. Mit ihr wird wieder ein neuer Organismus, ein neues Individuum geschaffen. Bei den protozoischen Blutparasiten sind wir einen festgefügten Wirtswechsel gewohnt, der sich im Laufe der phylogenetischen Entwicklung als der für den Parasiten geeignetste ausgebildet hat. Der Parasit macht in dem einen Wirt seine agamogene und progamogene bis zur Ausbildung der Gametocyten, und in dem zweiten Wirt seine sexuelle, gamogene und metagamogene Entwicklung durch. Neben dieser Entwicklung kennen wir noch die Parthenogenese, eine rückgebildete Befruchtung, die den weiblichen Formen durch besondere Umwandlungen des Kernes eine Regeneration zu agamogenen Formen ermöglicht. *Theileria parva* macht aber hierin eine wesentliche Ausnahme. Wir finden keine Parthenogenese, daher auch keine Rezidive und auch die Unmöglichkeit, neue Zecken nach überstandener Krankheit zu infizieren.

Die gamogenen Formen gehen aus den agamogenen hervor, und zwar liefert der Agamont durch die Zerfallteilung junge Gamonten, die sich vom Agamonten durch ihre Kernbeschaffenheit unterscheiden. Der Kern, um wieder mit diesem zu beginnen, zeigt auf allen Entwicklungsstadien mit Ausnahme der Teilungsformen mehr runde, ovale Form (Taf. X Fig. 20—41, Taf. XI Fig. 42 u. 43). Der Gegensatz zu den agamogenen Formen ist in dieser Beziehung ein so bedeutender, daß er als leichter und geradezu charakteristischer Unterschied gelten darf. Auch die Affinität der gamogenen Formen zu den Kernfarbstoffen ist viel stärker als bei den agamogenen. Das Wabenwerk des Kernes der Gamonten ist enger strukturiert färbt

sich mit allen Kernfarbstoffen sehr intensiv, mit Hämatoxylingemischen tief schwarz, mit Giemsa tief dunkelrot. Bei guter Differenzierung sieht man deutlich ein dunkler hervortretendes Korn, das Caryosom.

Bevor der Agamont durch Schizogonie Gamonten liefert, macht er wesentliche Kernumwandlungen durch. Man findet dann gar nicht selten Chromidienbildung, besonders bei den intracellulären Formen. Offenbar deuten diese Kernkonfigurationen auf eine Trennung der vegetativen und der generativen Kernsubstanz hin, wie wir sie ja auch aus dem Entwicklungskreis vieler anderer Protozoen kennen. Manchmal kommt es vor, daß der Parasit, noch ehe er in seine Gamonten zerfällt, zur Weiterentwicklung schreitet und dann die Gametocyten liefert. Aus dem Agamonten wird also durch Umbildung seiner dem vegetativen Leben bestimmten Kerne in generative Kerne zu einem Gamonten, welcher schließlich durch Schizogonie in seine Gametocyten zerfällt. Besonders auffallend ist ein derartiger Entwicklungsgang bei den intracellulären Formen, welche durch frühzeitiges Zugrundegehen der Wirtszelle (Taf. IX Fig. 19) in unregelmäßige, nicht ausgebildete Agameten zerfallen; die Teilprodukte der Parasiten gehen nicht immer zugrunde, sondern entwickeln sich sogleich weiter zu Gamonten und liefern frühzeitig Stechapfel- und schizogonische Formen (Fig. 27 u. 29).

Den Ausdruck Stechapfelform möchte ich nicht angewendet wissen, da er auch der agamogenen Generation zukommen müßte, auch ist er für morphologische Unterschiede ungeeignet. Bei intracellulären Formen finden wir sie nicht, es sei denn mit Hilfe der groben Ausstrichmethode und Trockenfixierung; denn durch letztere erhalten wir gar zu oft Kunstprodukte und gerade auch Stechapfelformen, welche wir bei lebender Beobachtung und feuchter Fixierung dann niemals antreffen.

Normalerweise liefert ein Agamont, nachdem er seine Kerne vor der Schizogonie umgewandelt hat, kleine 0,7—1 μ große Gamonten, die sehr häufig ein zweites kleines Korn an dem dem Hauptkern gegenüberliegenden Pole zeigen. Durch successive Teilung nach Art der früher beschriebenen primitiven Mitose vermehrt sich die Zahl der Kerne mit gleichzeitiger Größenzunahme des Parasiten bis 12 und mehr (vgl. Taf. X Fig. 25, 30, 35).

Die Schizogonie verläuft nicht immer gleichmäßig, wie Fig. 35 zeigt, sondern häufig bleiben kleinere, noch unausgebildete Gametocyten in Gruppen zu dreien, vieren und mehr zusammenliegen. Nicht selten infizieren sich rote Blutkörperchen mit solchen, und die Ausbildung der Gametocyten geht dann in diesen vor sich. Was die

Zahl der durch freie, gamogene Formen erzeugten Gametocyten betrifft, so steht sie meistens weit hinter derjenigen zurück, welche die intracellulären Formen geben (siehe Taf. XI Fig. 42 u. 43 nach feuchtfixierten und mit Giemsa gefärbten Präparaten). Wie aus dem vorhergehenden zu ersehen ist, hängt dies von der Widerstandsfähigkeit der betreffenden Wirtszelle ab. Bei einigen Küstenfieberfällen fand ich manchmal eine sehr große Zahl von Lymphocyten, welche die Infektion bis zum Zerfall in Gametocyten aushielten. Der Agamont zerfällt innerhalb des Lymphocyten in Gamonten, die sich ihrerseits wieder weiterentwickeln und auf diese Weise eine sehr große Zahl von Gametocyten produzieren. Auch die Bildung von Vierergruppen geht, wie schon früher einmal gesagt, aus der Zerfallteilung der Gamonten hervor (Taf. XI Fig. 42 u. 43, Taf. XIII Fig. 7). Wie aus den Figuren der Taf. XI zu sehen, bleibt meistens ein Restkörper zurück.

Wenn es bei diesen intracellulären, gamogenen Formen zu einem Zerfall kam, war stets auch der Untergang der Wirtszelle damit verbunden. Natürlicherweise können hier gerade bei der Zerbröckelung des Lymphocytenkernes oder des Leucocytenkernes in kleine, die Kernfarbstoffe ebenfalls aufnehmende Chromatinbestandteile Irrtümer begangen werden. In gefärbten Präparaten jedoch sind die Gametocyten leicht durch das sich gut tingierende Protoplasma zu erkennen, welches den Zerfallbröckchen des Wirtskernes fehlt.

Lebend zeigen diese kleinen Gametocyten schnellende Bewegungen, wodurch auch die Kommaform eine Erklärung findet.

Bei den gamogenen Formen, welche ungefähr die gleiche Größe wie die agamogenen erreichen, treten die Kerne bei lebender Beobachtung stärker lichtbrechend hervor als bei der agamogenen Generation, die durch die kompaktere Wabenstruktur bedingt ist. Auch intracellulär sind sie dadurch von Granulationen oder Chromidien der Wirtszelle zu unterscheiden. Vital färbten sie sich erst dann, wenn der Parasit am Absterben war.

Die gamogenen Formen in den roten Blutkörperchen.

Die einzigen, welche in letzter Zeit über die Parasiten der Blutkörperchen eine genauere Beobachtung geben, sind Nuttall, Fantham und Porter. Sie kommen zu dem Resultat, daß *Theileria parva* in den Erythrocyten an Größe zunimmt, sich auch durch große Beweglichkeit auszeichnen. Über eine Vermehrung drücken sich die genannten Autoren reserviert aus. Eine eigentliche Teilung haben

sie nicht beobachten können, wohl aber bei größeren Formen die Andeutung einer solchen, so daß sie der Möglichkeit einer Vermehrung innerhalb der roten Blutzellen Ausdruck geben. Was meine Beobachtungen betreffen, so habe ich bereits manches erwähnt. Ich habe nur Teilungen von Gamonten verfolgen können, und ich glaube auch, daß NUTTALL und seine Mitarbeiter diese Formen beobachtet haben. Die Entstehung der charakteristischen Kreuzformen geht in der Hauptsache in den Organen beim Zerfall der Gamonten in seine Gametocyten (Taf. XI Fig. 42 u. 43) vor sich. Es ist nun möglich, daß in Teilung begriffene Gamonten die Blutkörperchen befallen und dann im oder auf dem Erythrocyten die weitere Spaltung in Gametocyten vollzogen wird. In einem Fall von Küstenfieber, bei welchem ausnahmsweise viele Kreuzformen auftraten, beobachtete ich in den Blutkörperchen Teilung von mehrkernigen (2—4 stark lichtbrechende Kerne) Parasiten. Dies muß ich aber als eine Ausnahme ansehen, auch bin ich überzeugt, daß es sich um Gamonten, die die Blutkörperchen befielen, gehandelt hat.

Über die Bewegungen der Gametocyten in den Erythrocyten kann ich nur soviel sagen, daß ich nicht imstande war, die von NUTTALL und seinen Mitarbeitern hervorgehobene starke Aktivität zu bestätigen. Im Gegenteil fand ich die Bewegungen sehr träge. Eine Veränderung in der Form steht unzweifelhaft fest. Der kleine birnförmige Gametocyt nimmt, sobald er den Erythrocyten befallen hat, eine andere Gestalt an. Er wächst entweder zu ringförmigen, größeren Parasiten heran, welche bald die Ringe gegen runde oder birnförmige Gestalt vertauschen. Oder er wächst zu schmalen, längeren, bald gerade gestreckten, bald gekrümmten und geknickten Formen aus (Taf. XI Fig. 44 u. 45). Jedenfalls wird hierdurch die sexuelle Verschiedenheit charakterisiert. Erst das Studium des Entwicklungsganges in der Zecke wird hierüber richtigen Aufschluß geben können. In einem zweiten Teil meiner Arbeit, in welchem ich über den Entwicklungsgang im Überträger berichten werde. werde ich auf diese Formen noch näher einzugehen haben.

Lösungen von Saponin (10 Proz.), von taurocholsaurem Natrium (10 Proz.) und Chinin (1 Proz.) töten sehr schnell die Parasiten ab. Saponin und taurocholsaures Natrium lösen alle Formen aus dem Entwicklungsgang fast gänzlich auf. Auch die endoglobulären Blutstadien werden zerstört, sobald die entsprechende Konzentration hierfür verwendet wird. Der schädigende Einfluß der Parasiten auf die Erythrocyten ist so gering, daß man bei solchen Versuchen die-

jenige Konzentration benötigt, welche gerade hinreicht, die normalen Blutkörperchen eines gesunden Rindes zu vernichten.

Die vorher ausführlich beschriebene Entwicklung von *Theileria parva* geht in der Hauptsache in dem lymphatischen und hämolymphatischen Gefäßsystem vor sich. Über die pathologischen Veränderungen, welche der Parasit in diesen und in dem Tierkörper überhaupt hervorruft, hat K. F. MEYER am hiesigen Institut genauere Untersuchungen angestellt, auf die ich an dieser Stelle verweisen muß. Auch MEYER, zu Beginn meiner Arbeit noch nicht von der Pathogenität von *Theileria parva* überzeugt, kam zu den gleichen Resultaten wie ich, soweit es die Zerfallteilung der gamogenen Formen betrifft. Er fand, unabhängig von uns, in Trockenausstrichen die zuletzt beschriebenen, schizogonischen Formen.

Dadurch, daß der gamogenen Entwicklung eine agamogene vorausgeht, welche nur in den Organen und in den durch den Parasiten hervorgerufenen Hämorhagien (K. F. MEYER) stattfindet, wird mit der Bildung der Gametocyten ein sehr rasches und starkes Überschwemmen des Blutes mit Parasiten bewirkt. Auch die Erfahrung lehrt, daß die Zunahme der Parasiten im Blute von einem Tage zum anderen eine ungemein rasche ist. Und es fällt auf, daß bisher keine eingehendere lebende Beobachtung von einer bis jetzt angenommenen Weiterentwicklung im Blutkreislauf gemacht werden konnte. Da wir, wie aus dem Entwicklungsgang zu ersehen ist, keine Vermehrung im Blute haben, erklärt sich auch dieser Umstand. *Theileria parva* macht in dieser Beziehung keine Ausnahme.

Unter den Affenmalariaplasmodien haben wir ebenfalls gut zu unterscheidende, agamogene und gamogene Cyclen; die unter *Plasmodium Kochi* bekannten Formen sind sehr wahrscheinlich zwei Arten, deren eine die von v. BEHRENBERG-GOSSLER und mir beschriebene Entwicklung durchmacht, deren andere aber eine den Tropicaparasiten des Menschen ähnliche Entwicklung hat. Wir finden bei letzterer nur Gametocyten im Blute, die agamogenen Formen müssen also in den Organen zu suchen sein. Allerdings lassen sich diese Parasiten mit Blut übertragen, aus welchem Grunde wir auch Parthenogenese annehmen müssen. Den *Haemoproteus columbae* der Tauben Transvaals vermochte ich auch bisher nicht mit großen Blutmengen künstlich zu übertragen, wohl aber mit zerriebenen Lungenstückchen, in welchen die agamogenen Formen vorgefunden wurden. Parthenogenese, wie sie bei *Haemoproteus paddae* bekannt ist, habe ich auch noch nicht beobachtet. Sehr große Ähnlichkeit mit *Theileria parva* im Lebenscyclus hat *Trichosphaerium*

Sieboldi, bei der wir eine gut durch ihre Kerne unterschiedene agamogene und eine gamogene Generation haben.

Bei Babesieninfektionen finden wir eine schwere Schädigung der roten Blutzellen, Anisocytose, Basophilie, Polychromatophilie usw. und eine typische Vermehrung der Parasiten im Blute. *Theileria parva* ruft nicht diese Veränderungen hervor, nur gegen Ende der Krankheit zeigt sich eine nicht gerade allzu stark ausgeprägte Anisocytose. Nach Untersuchungen von W. H. Andrews, Assistenten am hiesigen Institut, über pathologische Veränderungen der Blutkörperchen übt der Parasitismus von *Theileria parva* auf die roten Blutzellen nur einen geringen Einfluß aus. Die Zahl der Erythrocyten nimmt erst ganz kurz gegen das Ende der Krankheit ab. Auch dies ist ein Beweis, daß der Parasit in den Blutkörperchen nur erscheint, um leicht in den zweiten Wirt zu gelangen, in welchem er seine sexuelle Entwicklung beginnen kann. Die Entwicklung in den Organen ist diejenige, welche den Tierkörper in der Hauptsache schädigt.

Wie bereits gesagt, ist eine künstliche Übertragung des Küstenfiebers nicht mit Blut möglich; bekanntlich ist es Theiler und Meyer gelungen, mit Organstückchen oder grob zerriebenen Organteilen die Krankheit von einem Rind auf das andere zu übertragen. Da wir in den Organen die Anfangsstadien immer vorfinden, welche sich weiter entwickeln können, in dem Blute die Endstadien, die sich nur in der Zecke weiter entwickeln, so ist diese Tatsache leicht erklärlich. Sicherlich wird auch eine Übertragung mit Blut möglich sein, obwohl Transfusion von 4—5 Liter auf der Höhe der Krankheit (von Theiler hier ausgeführt) ein negatives Resultat hatten. Vielleicht müßte man einen Moment am Anfang der Erkrankung, bevor die agamogenen Formen in den Drüsen auftreten, abpassen.

Zum Schluß möchte ich noch kurz auf die Ookineten zu sprechen kommen (Taf. XI Fig. 46 u. 47, Taf. XIII Fig. 8). Die Parasiten verlassen sehr schnell die Blutkörperchen, sobald sie in den Magen der Zecke gelangen, bereits innerhalb weniger Stunden. Auch die Beobachtung von Nuttall und seinen Mitarbeitern über ein Auswandern der Parasiten und ein neues Eindringen derselben in ein neues Blutkörperchen verfolgte ich, sobald die Parasiten in ein anderes Medium oder in andere physiologische Verhältnisse gebracht wurden. Ich glaube, daß normalerweise innerhalb des Blutkreislaufes des Rindes diese Wanderung nicht stattfinden wird. Die Parasiten bilden in der Zecke große Haufen, manchmal liegen sie zu einer

größeren Kugel zusammengeballt dicht beieinander, so daß einzelne morphologische Unterschiede kaum zu erkennen sind. Man kann im allgemeinen größere und breitere Formen unterscheiden, welche sich kaum bewegen und vielleicht die Macrogameten vorstellen. Die anderen Formen sind durch Beweglichkeit charakterisiert. Ich konnte die von KOCH und DSCHUNKOWSKY u. LUHS beschriebenen amöbenartigen Stadien niemals finden, öfters dagegen Formen, welche zugrunde zu gehen schienen, unter eigenartigen Zerfließungserscheinungen, Bildungen von Fortsätzen. Formen, denen ein weiteres Schicksal in der Zecke bestimmt ist, scheinen mir eher die von ebengenannten Autoren erwähnten Parasiten mit einem einzigen Fortsatz zu sein. Auch fand ich in diesen häufig einen zweiten Kern gut ausgeprägt. Da es mir noch nicht gelang, die Copulation zu verfolgen, möchte ich mich auch nicht auf theoretische Spekulationen einlassen. Unzweifelhaft ist dagegen das Auftreten der Ookineten, kleiner ungefähr 5 μ großer gregarinenartiger Gebilde, welche ebenso wie die Ookineten anderer Blutparasiten durch schnellende und sich krümmende Bewegungen ausgezeichnet sind. Auch Retortenformen konnte ich sehen, also Formen, welche auf eine weitere Entwicklung ähnlich den Malaria- und anderen Parasiten schließen lassen.

Onderstepoort (Transvaal), Juli 1910.

Literaturverzeichnis.

1) BETTENCOURT, A., FRANCA, C. et BORGES, J.: Un cas de piroplasmose bacilliforme chez Daim. Arch. do Real Instit. Bacteriol. Camera Pestana 1907.

2) BITTER: Texasfieber in Ägypten. 8. internat. Vet. Kongreß Budapest 1905, Vol. 111 p. 289.

3) BRUCK, HAMERTON, BATEMAN, MACKIE: Amakebe: A Disease in Uganda. Proceedings of the Royal Soc. 1910 Vol. 82.

4) DSCHUNKOWSKY u. LUHS: Die Piroplasmose der Rinder. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. (Orig.) Bd. 35 1904.

5) — —: Piroplasmose in Transkaukasien. Referat von TARTAKOWSKY. 8. internat. Vet. Kongr. Budapest Vol. 111 p. 290.

6. — —: Entwicklungsformen von Piroplasmen in Zecken. 9. internat. Vet. Kongr. Haag 1909.

7) DUCLOUX, M. E.: Sur une Piroplasmose bacilliforme du Boeuf en Tunisie. Compt. Rend. Soc. de Biol. 1905 Tome 59.

8) GONDER, R. u. v. BERRENBERG-GOSSLER: Untersuchungen über Malariaplasmodien der Affen. Malaria Bd. 1 1908.



9) Gonder, R.: Achromaticus vesperuginis. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 24 1906.

10) —: Über die Entwicklung von Piroplasma parvum in den Organen von küstenfieberkranken Rindern. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1910 Nr. 27.

11) —: Uhe Development of Piroplasma parvum. Suppl. to the Annales of the Transvaal Museum. Procedings of the Biol. Soc. Pretoria 1910.

12) Hartmann, M.: Die Fortpflanzungsweisen der Organismen. Biol. Centralbl. 1904.

13) Kleine: Bemerkung zu Dr. Mayer's Arbeit: Beiträge usw. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908.

14) Koch, R.: Report on Rhodesia Redwater or African Coast Fever Agricultural. Journ. of the Cape of good hope 1903.

15) —: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Piroplasmen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 54 1906.

16) Lichtenheld: Ergebnisse der von Koch ausgeführten und vorgezeichneten Forschungen usw. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 61 1908.

17) Lounsbury, P.: Ticks and African Coast Fever. Agricult. Journ. of the Cape of the good hope 1904.

18) Mayer, M.: Beiträge zur Morphologie der Spirochäten. Beihefte zum Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908.

19) Meyer, K. F.: Notes of the nature of Koch's Granules etc. Report of the Gov. Veterin. Bacteriologist Transvaal 1910.

20) Nuttall, H. F., Fantham, H. B., Porter, A.: Observations of Theileria parva. Parasitologie Vol. 11 1910.

21) Robertson, Wm.: Zu Transmission of African Coast Fever. Agricult. Journ. of the Cape of the good hope. Lounsbury, P., p. 426.

22) Theiler, A.: Report of the Government Veterinary Bacteriologist, in the Report of the Department of Agriculturel in Transvaal 1903—1906.

23) —: Report of the Government Veterinary Bacteriologist 1907—1910.

24) —: Prophylaxis of the tropical diseases. 9. internat. Vet. Congr. Haag 1909.

25) —: Notes on the stock diseases of German and Britisch East Africa etc. Transvaal Agricult. Journ. Vol. 8 1910.

26) Walker, J.: The Diagnosis of the bacillary piroplasmosis etc. Report of the Gov. Vet. Bact. 1909.

Tafelerklärung.

Alle Fignren der Taf. IX—XI wurden mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates nach feucht fixierten und mit Giemsa gefärbten Präparaten entworfen. (Zeiss-Mikrosk. Apochrom. homog. Immers. 2 mm, Comp. Oc. 12.) Taf. XII u. XIII geben Mikrophotographien wieder von Trockenausstrichen.

Tafel IX.

Fig. 1—19. Agamogene Generation.
Fig. 1—11. Freie Agamonten.
Fig. 11. Agamont in Schizogonie.

Fig. 12—19. Intracelluläre agamogene Formen.

Fig. 19. Schizogonie des Agamonten und Zerfall der Wirtszelle.

Tafel X.

Fig. 20—35. Freie, gamogene Formen.

Fig. 36—41. Intracelluläre Formen.

Fig. 36. Doppelinfektion.

Fig. 37. Zerfall des Zellkernes.

Fig. 39. Reduktionsvorgänge im Parasiten.

Tafel XI.

Fig. 42—43. Stark infizierte Lymphocyten. Gamonten in Schizogonie, Bildung von Kreuzformen.

Fig. 44—45. Gametocyten in den roten Blutkörperchen.

Fig. 46—47. Ookineten aus dem Magen der Zecke.

Tafel XII.

(Mikrophotographische Aufnahmen.)

Fig. 1. a) Freie agamogene Formen. b) Freier Gamont.

Fig. 2. Freier Gamont im Zerfall.

Fig. 3. a) Freier Agamont. b) Intracellulärer Agamont in Reduktion. c) Freier Agamont in Schizogonie. d) Intracellulärer Gamont in Schizogonie.

Fig. 4. a) Intracellulärer Gamont in Schizogonie. b) Intracellulärer Agamont in Schizogonie.

Tafel XIII.

Fig. 5. Freier Gamont unter Zurücklassung eines Restkörpers im Zerfall.

Fig. 6. Intracelluläre gamogene Formen.

Fig. 7. Desgl. im Zerfall. Bildung der Kreuzformen.

Fig. 8. Ookinet aus dem Magen von *Rhipicephalus appendiculatus*.

Untersuchungen über Arcellen.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

Dr. A. Khainsky.

(Hierzu Tafel XIV u. XV.)

Zwei Arten der Arcellen werden in vorliegender Arbeit untersucht: *Arcella vulgaris* Ehrbg. und *Arcella mitrata* Penard. Die Beobachtungen wurden im Winter 1909 und Sommer 1910 angestellt und umfassen somit wohl ungefähr den ganzen Cyclus des Arcellenlebens. Die allgemeinen Lebenserscheinungen der Arcella, welche bis jetzt noch nicht ausführlich und vollständig verfolgt worden sind, bildeten den Gegenstand meiner Untersuchungen, insbesondere wollte ich mich mit der sogenannten Chromidialsubstanz beschäftigen. Die Untersuchungen über die Schalenbildung, die Natur der Gasblasen, die Kernteilungsprozesse und Conjugation, ebenso die Experimente über die Verdauungsvorgänge und die Sauerstoffeinwirkung auf die Arcellen sind im Nachfolgenden mehr oder weniger vollständig ausgeführt worden, wogegen die Frage nach der Chromidialsubstanz und ihre physiologische Bedeutung nur teilweise behandelt wird, da diese Angelegenheit sehr kompliziert ist und über die Grenzen dieser Mitteilung hinausgeht.

Die Untersuchungsmethoden werden auf Grund allgemeiner physiologisch-histologischer Methodologie aufgebaut; die Beobachtungen an vital gefärbten Arcellen wurden durch histologische Total- und Schnittpräparate ergänzt. Die besten Resultate ergab die Fixierung mit Flemming's Flüssigkeit und Färbung mit

Erythrosin-Methylenblau. Wie wir später sehen werden, kann man diese Färbungsmethode als spezifische Reaktion auf Chromidial- und Kernsubstanzen betrachten. Außerdem fixierte ich die Arcellen mit Sublimat oder Sublimat-Kaliumbichromat und tingierte teils nach der Dreifarbenmethode Flemming's, teils mit Eisenhämatoxylin oder Hämatoxylin-Eosin; die Totalpräparate wurden mit Boraxkarmin, Alaunkarmin oder Boraxkarmin-Bleu de Lyon gefärbt.

Über die Schale.

Den Bildungsprozeß der Arcellenschale habe ich besonders klar bei lebendigen Formen beobachtet und den ganzen Entwicklungsgang mittels Vitalfärbung mit 0,1 proz. Tropäolinlösung, die mit Salzsäure titriert wurde, bis die Reaktion neutral war und die orange Farbe sich nicht verändert,[1]) verfolgt. Auf einigen Präparaten fand ich Arcellen in Vermehrung, und ein Präparat, an dem die Schalenbildung besonders schön hervortritt, soll hier beschrieben werden. Zwei Arcellen conjugierten unter dem Deckgläschen und bildeten dann nach 2½ Stunden durch ihre Vereinigung eine dritte junge Arcella. Das Plasma trat allmählich aus beiden Arcellenschalen heraus und bildete vereinigt den Leib eines neuen Individuums. Die neugebildete Arcella blieb mit den beiden ursprünglichen Individuen verbunden und befand sich in einer Ebene senkrecht zur Berührungsfläche der Conjugierenden. Nach einer gewissen Zeit bildete sich auf der ganzen Plasmaoberfläche der neuen Arcella sehr rasch ein Häutchen, welches eine feine Schaumstruktur deutlich zeigte (Taf. XIV Fig. 1). Die Scheidewände und Knotenpunkte färbten sich mit Tropäolinlösung intensiv orange, während das Innere der Alveolen einen schwachgelblichen Farbenton hatte. Mit diesen Arcellen habe ich folgendes Experiment gemacht: durch leichtes Klopfen erreichte ich, daß die beiden conjugierten Individuen auseinandergingen, sich jedoch nachher wieder vereinigten. Dabei blieb die junge Arcella stets mit einem der beiden ursprünglichen Individuen verbunden. Diese äußerliche Störung rief eine merkwürdige Erscheinung hervor. Nach der Wiedervereinigung der beiden Arcellen trat das Plasma der neuen Arcella aus dem jungen Schalenhäutchen heraus und verschmolz mit den conjugierten Individuen, indem nur eine dünne Plasmaschicht an der

[1]) Diese vitale Färbungsmethode habe ich in meiner Arbeit über die Physiologie und Morphologie der Infusorien mitgeteilt und als „intracellulare vitale Färbung" bezeichnet. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 1910 S. 1.

inneren Fläche des Häutchens verblieb. Es war interessant, daß, bevor das herausgetretene Plasma mit dem der conjugierten Arcellen zusammenfloß, ein neues alveolares Häutchen sich bildete, welches nicht mehr zusammenfließen konnte.

Mittels Tropäolinfärbung kann man solche Schaumhäutchen bei allen jungen Arcellen nachweisen, bei denen ohne Färbung keine solche Struktur der neugebildeten Schale zu beobachten ist.

Entsprechende Stadien ließen sich auch auf den Schnittpräparaten finden. Wie aus der Fig. 2a Taf. XIV zu sehen ist, ist eine solche Arcella von einem alveolaren Ectoplasmahäutchen überzogen. Bei starker Vergrößerung kann man sogar zwei bis mehrere solche alveolare Ectoplasmaschichten nachweisen (Taf. XIV Fig. 2b). Ein solcher Ectoplasmasaum findet sich auch bei den Arcellen, die schon eine gut entwickelte Schale besitzen, und zeigt ebenfalls alveolare Struktur. Das Ectoplasma ist stets heller und enthält keine Konkretionen. Die Chromidialsubstanz liegt immer in einer gewissen Entfernung von der Oberfläche des Zellkörpers und begrenzt den Ectoplasmasaum deutlich nach innen (Taf. XIV Fig. 2a).

Die jungen Schalen haben im Anfangsstadium sehr unregelmäßige Alveolen von recht verschiedener Größe (Taf. XIV Fig. 3). Diese Tatsache beweist wohl, daß die allmähliche Kammerbildung der definitiven Schalen durch Verschmelzung der einzelnen Alveolen zustande kommt. Allmählich verlieren die unregelmäßigen Alveolen ihre ursprüngliche Gestalt und nehmen dem physikalischen Oberflächenspannungsgesetze entsprechend hexagonale Form an (Taf. XIV Fig. 4). Die Schalen, welche dies Stadium erreichten, sind noch ganz weich, durchsichtig und innig mit dem Ectoplasma verbunden. Wie Schnittpräparate beweisen, schrumpfen solche Schalen bei der Konservierung mit dem Plasmakörper zusammen und sondern sich von dessen Ectoplasma nicht ab. Die alveolaren Scheidewände junger Schalen färben sich gut mit Erythrosin und Methylenblau und die Knotenpunkte sind gleichfalls deutlich sichtbar (Taf. XIV Fig. 4). Im Querschnitt sind die jungen Alveolen breit und ziemlich niedrig: ihre Breite ist ungefähr zweimal größer als die Höhe; die Scheidewände sind sehr dünn (Taf. XIV Fig. 5a). Der Inhalt der Kammern löst sich gewöhnlich bei Präparierung auf und in den einzelnen Fällen gelang es mir, solche Arcellen zu finden, bei welchen die Kammern mit einer mit Methylenblau oder Eisenhämatoxylin schwach färbbaren Flüssigkeit erfüllt wurden.

Der weitere Entwicklungsgang der Schale zeigt sich äußerlich darin, daß die Schale sich bräunt und erstarrt. Die Schnitte erlauben

festzustellen, daß dieser Prozeß durch die Ablagerung oder Einlagerung einer braungefärbten Substanz hervorgerufen wird. Die braune Substanz durchdringt allmählich die Alveolenwände und lagert sich in oder an ihnen ab, wo sie dicker werden. Das Innere der Alveolen bleibt hell, durchsichtig und immer scharf abgegrenzt von den braunen Alveolenwänden (Taf. XIV Fig. 6). Die Ablagerung brauner Substanz schiebt die Alveolen gleichzeitig mit Verdickung ihrer Wände auseinander; die Alveolen werden dabei wegen der Seitendruckerhöhung höher, ihre radiären Kanten runden sich ab und zwischen den Kammern bilden sich verschiedenartige feine Räume (Taf. XIV Fig. 7). Die Verlängerung der einzelnen Kammern vergrößert den Querschnitt der Schale. Schließlich können die einzelnen Alveolen wegen weiterer Seitendruckerhöhung nach außen etwas vorspringen, was die hügelige Oberfläche alter Schalen bedingt. Dieser Ablagerungsprozeß der braunen Substanz führt endlich zur Ablösung einzelner Alveolen und ihrem Herausfallen aus der Schale, was dadurch ermöglicht wird, daß die Alveolenwände selbst von feinsten Hohlräumchen durchsetzt sind. Die letzten Degenerationserscheinungen der Schale treten besonders klar bei *Arcella vulgaris* ein; bei *Arcella mitrata* findet man dagegen das Herausfallen einzelner Alveolen sehr selten. Man kann voraussetzen, daß die dunkelbraune Substanz der Schale bei *Arcella mitrata* etwas weicher und klebriger ist als bei *Arcella vulgaris*; die Schale selbst wird dadurch bei *Arcella mitrata* plastisch, was ihre gattungseigentümliche Vorwölbung der Schale bedingt.

Die chemische Beschaffenheit der Substanz der Alveolenwände kann man durch einige Reaktionen etwas näher bestimmen. Die Vitalfärbung mit Tropäolinlösung weist anfänglich bei jungen farblosen Schalen einen orangegelben Ton der Wände auf, der bei längerer Einwirkung in rosarot übergeht. Die alten braunen Schalen weisen solche Reaktion nicht auf. Der Farbenübergang von orange zu rosarot deutet auf saure Reaktion hin. Die innere Flüssigkeit der Alveolen gibt diese Reaktion nicht so intensiv und charakteristisch. Außer der sauren Reaktion geben die Alveolenwände mit Silberhydroxyd eine Reaktion, die für Aldehyden und Oxyaminosäuren charakteristisch ist. Wenn man die Arcellen mit Silberhydroxyd auf dem Objektträger behandelt und erwärmt, tritt sofort Silberreduktion ein, wobei sich die Silberkörnchen an den Alveolenwänden abscheiden. Diese Silberreduktion geben die jungen und alten (braunen) Schalen ohne Unterschied. Aus diesen charakteristischen Reaktionen folgt, daß die Substanz der jungen Schalen eine Oxyaminosäure enthalten; in den alten Schalen bildet diese

Oxyaminosäure wahrscheinlich ein Eisensalz,[1]) das die braune Farbe hervorruft.

Über die Gasblasen bei Arcellen.

Schon vor langer Zeit hat ENGELMANN[2]) die Gasentwicklung in den Arcellen untersucht. Diese Erscheinung hat viel Interesse erweckt und ihre Natur blieb ganz unklar. BUNGE[3]) erinnert in seinem Lehrbuch der Physiologie des Menschen an diese Erscheinung und bemerkt dazu: „Ich habe diese Tatsache nur angeführt, um zu zeigen, mit wie verwickelten Lebenserscheinungen wir es selbst da noch zu tun haben, wo die mikroskopische Forschung bereits an der Grenze angelangt ist und wie wenig es bisher gelungen ist, irgendwelche Lebenserscheinungen mechanisch zu erklären" (S. 8).

Nach ENGELMANN's Untersuchungen sind diese Gasblasen der Arcellen gewöhnliche Luftblasen, welche bei Untersuchung im hängenden Tropfen plötzlich und gleichzeitig erscheinen; sie entstehen an allen Stellen im Plasma, haben eine meist unregelmäßige Form und stehen in keiner Beziehung zum Kern und den contractilen Vacuolen. Die Luftblasen erscheinen immer, wenn die Arcellen an der unteren Fläche des Tropfens kriechen, verschwinden dagegen allmählich, wenn die Arcellen nach oben gegen das Deckglas aufsteigen. Wenn eine Arcella nach dem Verschwinden der Luftblasen wieder herabsinkt, so können sich wieder Gasblasen entwickeln. Häufig wiederholt sich dieser Prozeß nach ENGELMANN's Beobachtungen; nach einiger Zeit aber nimmt die Fähigkeit, Gas zu entwickeln, bei den Arcellen ab — „die Arcellen ermüden also bei langer fortgesetzter Luftentwicklung" — bemerkt ENGELMANN (S. 210).

Die Volumveränderungen treten bei allen Luftblasen desselben Individuums gleichzeitig, in gleichem Sinne und in gleichem Maße auf. Es kommen aber nicht wenig Ausnahmen vor. Häufig wachsen oder verkleinern sich einige Blasen schneller als die anderen (S. 311). Die Luftblasenentwicklung der Arcellen betrachtet ENGELMANN als eine zweckmäßige Anpassung des Organismus zum Aufsteigen im Wasser, die mit der Physiologie des Organismus selbst verbunden ist. Jedenfalls „kann man nicht leugnen, daß diese

[1]) AWERINZEW's Arbeit nach enthalten die Arcellenschalen Eisen.

AWERINZEW, S.: Die Struktur und die chemische Zusammensetzung der Gehäuse bei den Süßwasserrhizopoden. Arch. f. Protistenk. Bd. 14 1907 S. 109.

[2]) ENGELMANN, TH. W.: Beiträge zur Physiologie des Protoplasmas. PFLÜGER's Archiv Bd. II 1869.

[3]) VON BUNGE, S.: Lehrbuch der Physiologie des Menschen. Leipzig 1901.

Tatsachen auf physische Prozesse im Protoplasma deuten“ — schreibt Engelmann (S. 311).

Es gelang mir, diese verwickelten Probleme ganz einfach zu lösen. Bei Arcellen, die in gewöhnlichen Fäulniskulturen fast ein halbes Jahr lang lebten und sich normal vermehrten, konnte ich nie Gasblasen auffinden. Ich schüttelte das Kulturwasser, erneute es teilweise, doch trat nie Gasentwicklung auf. Einzelne Arcellen mit Gasblasen beobachtete ich dagegen in Kulturen, welche Algen und Sumpfmoos enthielten. Doch war meine Vermutung, daß die Gasblasen von verschluckten, noch lebenden Algen produziert würden und Sauerstoff enthielten, experimentell nicht nachzuweisen. Die Arcellen mit vielen angenommenen Algen entwickelten im Sonnenlicht keine Blasen; wenn die Arcellen Gasblasen enthielten, so konnte ich sogar beobachten, daß die Blasen im Sonnenlicht sich verkleinern und allmählich verschwanden. Bemerkenswert ist, daß die Gasblasen auch im Dunkeln auftraten. Versuche im hängenden Tropfen zeigten, daß bei weitem nicht alle Arcellen Blasen produzierten; viele bildeten überhaupt keine und krochen dennoch auf der Tropfenoberfläche umher, obwohl die Beobachtungen 2—3 Tage fortgesetzt wurden. Bei jungen Arcellen, die eine farblose, weiche Schale haben, konnte ich überhaupt nie Blasen finden. Das Auftreten der Gasblasen steht auch in gewisser Beziehung zur Form des hängenden Tropfens. Wenn dieser am Deckgläschen etwas zerfließt und daher seine sphärische Form verliert, trat die Gasentwicklung nicht auf, obwohl ich die Arcellen 2—3 Tage in der feuchten Kammer aufbewahrte. Am leichtesten und mehr oder weniger regelmäßig entwickelten sich die Gasblasen, wenn der Tropfen nicht sehr groß und kugelig ist.

Jedenfalls findet sich die Gasbildung nicht so regulär und zweckmäßig, wie Engelmann angibt. Die Größe der Blasen, ihre Zahl, Lage, Anordnung und Form sind sehr verschieden und veränderlich; die Blasen werden von den Plasmaströmungen passiv umhergeführt, ihre Lageänderung bedingt mechanisch die verschiedene Haltung der Arcellen im Wasser. Manchmal kann man beobachten, daß das Plasma allmählich die kleinen Blasen umfließt, und dann schwimmen die Bläschen im Plasma selbst.

Die chemischen Untersuchungen zeigen, daß die Gasblasen in Alkalien sich nicht auflösen und dadurch keine Kohlensäure enthalten, ebenso ergeben sich die spezifischen Reaktionen für Sauerstoff (rein) und Schwefelwasserstoff nicht. Man möchte annehmen, daß die Gasblasen, welche gewöhnliche Luft enthalten, wie es auch Engelmann festgestellt hat, von außen in die Arcellen eindringen.

Eine solche Entstehung der Blasen habe ich experimentell bei Arcellen nachzuweisen vermocht. Wenn man aus dem Uhrschälchen, an dessen Boden die Arcellen kriechen, das Wasser absaugt und die Arcellenschale mit der äußeren Luft in Berührung tritt, so dringt diese durch die Schalenwand stürmisch hinein und bildet die genannten Gasblasen. Solche Blasenbildung tritt auch ein, wenn man die Arcellen mit der Präpariernadel allmählich an den Wasserrand schiebt; bei Berührung der Schale mit Luft bilden sich Bläschen verschiedener Größe, je nachdem die Arcella mehr oder weniger aus dem Wasser herausgeschoben wird. Die Gasblasen bilden sich auf diesem Wege nie bei jungen Arcellen mit farbloser, weicher Schale. Diese Unmöglichkeit, die Gasblasen bei jungen Arcellen künstlich hervorzurufen, steht in engster Beziehung mit dem steten Mangel solcher Blasen bei jungen Arcellen in normalen Umständen und im hängenden Tropfen. Die künstliche wie auch die normale Gasblasenbildung ist daher leicht auf folgende Weise zu erklären.

Da die erwachsene Schale fest ist, so bildet sich wegen der Plasmakontraktion zwischen der Schale und dem Plasma ein Zwischenraum. Solchen Zwischenraum kann man bei alten Arcellen in normalen Lebensbedingungen sehr oft und leicht beobachten: dieser Zwischenraum scheint ganz hohl und mit dem Wasser nicht erfüllt. Es bildet sich auf diese Weise ein innerer Raum, in welchem der Druck niedriger als normal ist, d. i. es bildet sich ein Vakuum verschiedener Größe, je nachdem, wie stark das Plasma sich kontrahiert. Wenn die Schale in Berührung mit Luft kommt, dringt die Luft in die Schale gewöhnlichen physikalischen Gesetzen entsprechend hinein und bildet die obengenannten Gasblasen. Die Abwesenheit dieser Blasen bei jungen Arcellen erklärt sich dadurch, daß die junge Schale aufs engste mit dem Plasmakörper verbunden ist, wie wir im ersten Abschnitt dieser Arbeit gesehen haben, und ihrer Elastizität wegen mit dem Plasma zusammen kontrahieren kann; es kann sich kein Zwischenraum zwischen Plasma und Schale bei den Plasmakontraktionen bilden. Diese Tatsache, daß die Gasblasen in dem hängenden und sphäroidalen Tropfen nur an der unteren Tropfenoberfläche bei Arcella sich bilden können, stimmt völlig mit meiner experimentellen Erklärung überein. Die Arcellen, wenn sie an der unteren sphäroidalen Tropfenoberfläche kriechen wollen, pressen die Schalen bei Pseudopodienbildung zu der freien Tropfenoberfläche, und so kann die Schale in die Berührung mit Atmosphäre kommen. Ähnlich bilden sich die Gasblasen bei Arcellen in manchen Kulturen,

wenn die Arcellen auf den aus dem Kulturwasser herausragenden Gegenständen kriechen.

Die Gasblasen spielen keine physiologische Rolle bei Arcellen, und für den Organismus selbst sind sie nur schädlich. Die Arcellen, welche die Gasblasen enthalten und keine Möglichkeit haben, an irgendwelchen Gegenstand sich anzuhaften, sterben stets allmählich ab. Wenn die Arcellen mit Blasen z. B. frei an der Wasseroberfläche im Uhrschälchen passiv schwimmen, können sie keine Nahrung aufnehmen und überhaupt keine Pseudopodien bilden. In den Fällen, wo die Arcellen mit Blasen an irgendeinem Gegenstand anhaften, pressen sie die Gasblasen durch die Schale heraus. In Übereinstimmung mit meinen Beobachtungen stehen auch die Bemerkungen Engelmann's, daß bei obenschwimmenden Arcellen, welche sich an das Deckgläschen nicht befestigt und die Schalenöffnung nach unten gerichtet haben, die Luftblasen meist sehr lange Zeit bestehen bleiben, ohne daß ihr Volum sich in erheblichem oder auch nur merklichem Maße ändert (S. 318).

Über die Vermehrung der Arcellen.

Soviel mir bekannt ist, wurden bis jetzt nur einzelne Stadien der Kernteilung bei Arcellen verfolgt, ebenso blieben die histologischen Vorgänge bei der Teilung unbekannt. In normalem Zustande besteht der Kern aus zwei oder mehreren Substanzen, die sich morphologisch folgendermaßen lokalisieren: einige bilden den kugeligen Binnenkörper, andere erfüllen den Raum zwischen diesem und der Kernmembran. Beide Kernteile unterscheiden sich durch ihre Färbbarkeit. Der oder die Binnenkörper, die bei Borax- und Alaunkarmin sich diffus und strukturlos färben, zeigen bei Erythrosin-Methylenblaufärbung, ebenso teilweise bei Hämatoxylin-Eosin und Flemming's dreifacher Färbung, eine interessante Metachromasie, die dem Macronucleus der Infusorien ganz ähnlich ist. Es tritt auch nicht selten auf, daß die Binnenkörper mit Erythrosin nur rot gefärbt werden und in diesem Falle keine innere Struktur aufweisen. Meist findet man die mit Erythrosin und Methylenblau gefärbten Binnenkörper in verschiedenen Nuancen von kirschrot bis dunkelviolett tingiert; solche Binnenkörper enthalten viele blaßblau gefärbte kleine Körnchen und zeigen deutliche Netzstruktur (Taf. XIV Fig. 8). Der Kernraum dagegen enthält immer eine gewisse Menge von Körnchen, die sich mit Karmin oder Erythrosin rot färben. Unter bestimmten Umständen vermehrt sich die Zahl dieser Körnchen im

Kernraum, manchmal füllen sie letzteren völlig aus. Diese Körnchen können wahrscheinlich durch Zusammenfließen einen Binnenkörper bilden, wie der Binnenkörper andererseits auch in solche Körnchen zerfallen kann. Man findet zuweilen Kerne, welche keinen Binnenkörper enthalten (Taf. XIV Fig. 9c), oder welche gleichzeitig große Körnchen und einen Binnenkörper enthalten (Taf. XIV Fig. 9b). Auf Schnitten ist die Metachromasie auch bei den großen Körnchen zu beobachten. Alle Kerne, bei denen die erwähnten Prozesse vor sich gehen, haben ein größeres Volum als gewöhnlich und meist ihre sphärische Form verloren. Diese Erscheinungen stehen mit den Kernteilungsprozessen in Beziehung, die bei den Arcellen sowohl direkt als indirekt (mitosenähnlich) sich vollziehen können.

Die direkte Kernteilung besteht darin, daß mit der Volumvergrößerung in dem Kernraum die genannten Körnchen sich teilweise vereinigen und oftmals einen zweiten Binnenkörper bilden, oder sich an dem einen Kernpol zusammen gruppieren (Taf. XIV Fig. 11—14). Darauf folgt eine Verlängerung des Kernes und seine allmähliche Ein- und Durchschnürung. Diesen Prozeß kann man vollständig auf den Fig. 11—22 (Taf. XIV) verfolgen, welche die aufeinanderfolgenden Stadien der direkten Teilung illustrieren. Doch muß betont werden, daß der Binnenkörper sich auch durch Zweiteilung vermehren kann (Taf. XIV Fig. 10a—c). Auch die Körnchen des Kernraumes vermehren sich durch Teilung (Taf. XIV Fig. 9b, c). Zu bemerken ist noch, daß bei der direkten Teilung nicht stets ein zweiter Binnenkörper ausgebildet ist; man trifft auch auf späteren Stadien an einem Kernpol zuweilen die noch nicht zusammengeflossenen Körnchen (Taf. XIV Fig. 14—17). Wie die Schnittpräparate zeigen (Taf. XIV Fig. 21—22), haben die Binnenkörper fast diffuse Färbung und sehen wie ein Flüssigkeitstropfen aus. Jedenfalls unterscheiden sie sich ihrer Struktur nach wesentlich von denen, die man bei direkt sich teilenden Kernen beobachtet. Dieser Prozeß der direkten Kernteilung vollzieht sich sehr rasch, besonders in den Endstadien, und ich mußte mehrere Nächte durch das Material in Intervallen je 15 Minuten konservieren, bevor ich alle Stadien fand. Der direkte und indirekte Kernteilungsprozeß vollendet sich stets gegen 5 Uhr Morgens und geht unabhängig von der Jahreszeit zwischen 1 und 5 Uhr Nachts vor sich. Die Geschwindigkeit und der ganze Charakter der direkten Kernteilung weist ihre rein physikalische Natur auf und spielt sich nach dem sogenannten Katenoidgesetze der Flüssigkeiten ab. Daß der Binnenkörper sich häufig an die Kernmembran anschmiegt (Taf. XIV Fig. 13, 15, 16, 20) und

etwas zerfließt (Taf. XIV Fig. 13, 16, 20), daß der Binnenkörper in zwei oder mehrere Teile zerfallen kann, daß die Körnchen durch Zusammenfließen einen zweiten Binnenkörper bilden können, daß die direkt sich teilenden Kerne sehr charakterische Formen annehmen, all diese Tatsachen beweisen die flüssige Konsistenz der Kernstoffe und bestätigen unsere Erklärung der direkten Kernteilung.

Die Kerne vermehren sich durch diese direkte Teilung sehr rasch und relativ einfach; wogegen die Vermehrung der Arcellen langsamer stattfindet, so daß man häufig vielkernige Arcellen, die bis 18 Kerne enthalten können, findet.

Die wesentlichen Erscheinungen der indirekten Kernteilung beginnen mit Strukturveränderungen der Binnenkörper. Schon in den ersten Anfangsstadien der indirekten Kernteilung erlangt der Binnenkörper eine Volumvergrößerung und eine deutliche Netzstruktur (Taf. XIV Fig. 8, 23), die Chromatinsubstanz zerfällt in kleinste Körnchen, die sich mit Erythrosin-Methylenblau grau-bläulich färben. Der Umfang des Binnenkörpers vergrößert sich allmählich mehr und mehr, so daß schließlich ein Stadium erreicht wird, wo kein Kernraum mehr besteht (Taf. XV Fig. 24—27). Bei dieser successiven Umfangvergrößerung des Binnenkörpers kann man die kleineren Körnchen im Kernraum verfolgen, die den sich im Binnenkörper befindlichen ganz ähnlich aussehen (Taf. XV Fig. 24, 25). Die Körner sind häufig, besonders in Anfangsstadien ungleichmäßig und von verschiedener Größe (Taf. XV Fig. 24, 27). Gleichzeitig mit diesen Vorgängen im Binnenkörper vergrößert sich auch der gesamte Kern. Wenn der Kern dasjenige Stadium erreicht, wo der ursprüngliche Kernraum ganz verschwunden ist, tritt eine regelmäßige Anordnung des Netzwerks auf und es bildet sich allmählich die Spindelfigur aus (Taf. XV Fig. 28, 29). Die Spindelfasern laufen der größeren Kernachse entlang und sind durch feinere Querstreifen verbunden, die Körnchen, welche sich auf den Spindelfasern befinden, erscheinen etwas zerflossen.

Die nächsten Stadien gelang es mir nicht zu verfolgen. Die wahrscheinliche Rekonstruktion des ganzen Vorgangs wird dadurch nicht gestört, da ich mit derselben Färbungsmethode (Erythrosin-Methylenblau) ähnliche Teilungsfiguren im Micronucleus der conjugierenden Colpidien bekommen habe, welche ich bis ans Ende verfolgen konnte. Der indirekte Teilungsprozeß des Micronucleus der Colpidien unterscheidet sich von dem bei Arcella morphologisch gar nicht, nur färben sich die Körnchen und Spindelfasern mehr rosa-rot, woraus ich schließe, daß die weiteren Vorgänge auch bei Arcella sehr ähnlich verlaufen. Das bestätigen auch die Abbildungen

von SWARCZEWSKY[1]) und ELPATIEWSKY[2]), obwohl sie sehr schematisch sind.

Vom physikalischen Standpunkt ist kein prinzipieller Unterschied zwischen direkter und indirekter Kernteilung vorhanden. Die Metachromasie des Kernes weist in den Anfangsstadien eine Vergrößerung der mit Methylenblau dunkel sich färbenden Substanz, die eine energische chemische Reaktion zur Folge hat. Ich glaube, daß die Netzstruktur durch das Ausfällen dieser Substanz bedingt ist, wobei sich die Ausfällungsprodukte zwischen den Alveolen ausscheiden, und gleichzeitig zerfällt die Chromatinsubstanz in kleine Körnchen. Später kommt die Auflösung der ausgefallenen Substanzen, welche der Hydrolyse entsprechend Spindeln bilden und die polaren Figuren bedingen. Nachdem die chemischen Prozesse sich beendigt haben, tritt die Einschnürung des Kernes und seine vollständige Zweiteilung nach dem Katenoidgesetze ein, denn die inneren Druckkräfte wirken zweizentrisch an den beiden Polen.

In sämtlichen Fällen, welche ich beobachten konnte, war die indirekte Kernteilung mit der Conjugation der Arcellen verbunden. Ebenso ließ sich feststellen, daß die direkte Kernteilung eine sehr intensive Arcellenteilung zur Folge hat. In den Kulturen habe ich häufig die direkte Kernteilung und Bildung eines neuen Individuums durch Austreten des Plasmas aus der Schale zusammen auftreten sehen.

Die Conjugation spielt eine wichtige physiologische Rolle bei Arcellenvermehrung. Ich kann überhaupt nicht die sogenannte Pseudopodiogamie und Chromidiogamie[1])[2]) in Betracht nehmen, da ich solche nie beobachten konnte. Ich habe zwar die zufällige Verschmelzung der Pseudopodien zweier Arcellen beobachtet, wenn sie z. B. einen Nahrungskörper fressen wollten, oder wenn die Conjugation im Anfangsstadium gestört wurde. Die Arcellen, welche zu conjugieren anfangen und sich mit ihren Pseudopodien vereinigen, gehen bei leichtem Klopfen wieder auseinander, doch vereinigen sie sich später von neuem. Es ist unzweckmäßig, die zufällige Vereinigung der Arcellen mittels Pseudopodien als Gamie zu betrachten, wenn wir unter der Gamie einen dem sexuellen ähnlichen Vorgang verstehen wollen. Wenn man aber von Chromidiogamie reden will, sollte man erst die Chromidialsubstanz und ihre physiologische Funktion genauer bestimmen. Wenn die Chromidialsubstanz wirk-

[1]) SWARCZEWSKY, B.: Über die Fortpflanzungserscheinungen bei *Arcella vulgaris*. Arch. f. Protistenk. Bd. 7 1908.

[1]) ELPATIEWSKY, W.: Zur Fortpflanzung von *Arcella vulgaris*. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 1908.



lich eine kernähnliche Substanz wäre, so wäre zu erweisen, daß sie wirklich am Conjugationsprozeß teilnimmt, und nicht etwa dieselbe Rolle spielt, wie der Macronucleus bei den Infusorien. Die Chromidiogamie beruht auf ganz unbegründeten Voraussetzungen über die Bedeutung der Chromidialsubstanz der Arcellen. Auch konnte ich keine Caryogamie bei Arcellen beobachten, keine Kernverschmelzung oder Vereinigung. Nachdem die Arcellen sich vereinigt haben, teilen sich die Kerne nur indirekt. Dann bilden die conjugierten Arcellen zusammen ein neues drittes Individuum in der Weise, daß das Plasma beider herausfließt, wobei wahrscheinlich je ein Kern aus beiden Conjuganten in das neue Individuum eintritt (Taf. XV Fig 30). Auf vorliegender Abbildung enthält die eine der conjugierten Arcellen drei Kerne, die andere nur zwei deutliche, obwohl ein kernähnliches Gebilde aus dem Präparat tief im Arcellakörper liegt; doch kann ich es nicht sicher als Kern identifizieren.

Die dritte, neugebildete Arcella bleibt längere Zeit mit den beiden ursprünglichen zusammen verbunden. Diese Erscheinung, daß mit zwei alten Arcellen eine junge mit heller Schale vereinigt ist, konnte ich sehr oft beobachten. Außerdem können aber zwei conjugierende Arcellen noch eine vierte bilden. Man findet auch, daß drei Arcellen gleichzeitig conjugieren können, um mehrere neue zu bilden. Es kann sich somit ein Klümpchen der Arcellen bilden, die eng und innerlich verbunden bleiben. Mit solchen Klümpchen können andere Arcellen sich wahrscheinlich vereinigen. Den Tatsachen entsprechend darf man von Conjugation der Arcellen nur dann sprechen, wenn gleichzeitig Vermehrung die Folge ist. Die Conjugation bei Arcellen unterscheidet sich also wesentlich von der der Infusorien.

Ebenso umfaßt der Kern bei Arcellen wahrscheinlich zugleich die Eigenschaften des Macro- und Micronucleus der Infusorien. Die Funktionen, welche bei Infusorien getrennt erscheinen, konzentrieren sich bei den Arcellen in einem Kernorgan.

Die vitale Färbung und die Verdauungsprozesse.

Wichtige Ergebnisse über die Verdauungsvorgänge bei Arcella liefert die vitale Färbung. Di- und triamidosulfosaure Farbstoffe, wie Bismarckbraun, Vesuvin, Tropäolin und Kongorot, auch die Alizarinsulfosäure und Methylorange ergeben nur sehr schwache und nicht charakteristische vitale Färbungen. Neutralrot und Methylenblau wirken sehr energisch, färben gewisse Plasmabestandteile

intensiv und leicht; so treten die Nahrungsvacuolen, Nahrungsballen und kleine Körnchen hervor, die nach ihrer Menge und Struktur Schwankungen unterliegen. Besonders gut differenzieren sich die Nahrungsgebilde bei Anwendung der sogenannten vital-letalen Färbung,[1]) die eine Doppelfärbung ergibt. Die Nahrungsballen und die kleinen Plasmakörnchen färben sich rot, nur einzelne Nahrungsvacuolen, die sich auch bei ihrer sonstigen Beschaffenheit von den roten unterscheiden, werden blaugrün. Letztere zeigen den typischen Bau der Nahrungsvacuolen der ersten Periode der Paramäcien: sie sind groß und enthalten verschiedene Nahrungskörper, die von Methylenblau intensiv gefärbt werden (Taf. XV Fig. 31 *N.v.*). Die Nahrungsvacuolen oder Nahrungsballen, die sich mit Neutralrot färben, sind fast immer bedeutend kleiner als die eben erwähnten, obwohl ihre Größe variiert. Ihre Färbung ist diffus rot; sie enthalten meist kleine rotgefärbte Körnchen in verschiedener Anzahl (Taf. XV Fig. 31 *N.b.*). Außerdem findet man im Plasma kleine rotgefärbte Körnchen, die bei Vitalfärbung nicht stets hervortreten (Taf. XV Fig. 31 *n*). Vermutlich hängt die Zahl dieser Körnchen von dem Verdauungszustand· ab. Sie zeigen Molekularbewegung und finden sich besonders in der Gegend der Chromidialsubstanz (Taf. XV Fig. 31 *n.*) am peripherischen Rand des Plasmakörpers.

Bei Färbung mit den Leukobasen der entsprechenden Anilinfarben[2]) kann man die Verdauungsprozesse etwas weiter verfolgen. Neutralrot- und Kongorotlösungen, welche mit Salzsäure titriert wurden und bei Infusorien eine spezifische Reaktion geben (vgl. Khainsky[2])), wirken bei den Arcellen ganz anders. Die Leukobase des Neutralrot färbt die Nahrungsballen und Körnchen in dem gewöhnlichen roten Ton, es tritt also eine Wiederherstellung der Farbe auf. Die mit Salzsäure titrierte Kongorotlösung gibt dagegen keine blaugrüne Färbung, wie es bei Infusorien der Fall ist. Daraus folgt, daß die Nahrungsvacuolen bei Arcella keine f r e i e Säure enthalten. Die Differenzierung der Nahrungsballen und Plasmakörnchen von den Nahrungsvacuolen mittels der vital-letalen Färbung, ebenso wie die Färbung ersterer mit Neutralrotleukobase, mit der sie eine chemische Verbindung geben[2])[3]), unterscheiden erstgenannte stets

---

[1]) Růžička, W.: Zur Theorie der vitalen Färbung. Zeischr. f. wiss. Mikr. Bd. 22 1905.

[2]) Khainsky, A.: Zur Morphologie und Physiologie einiger Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 1910.

[3]) Heidenhain, M.: Über chemische Umsetzungen zwischen Eiweißkörper und Anilinfarben. Pflüger's Arch. Bd. 90 1902.

wesentlich von anderen Nahrungselementen. Vermutlich sind die Nahrungsballen und Körnchen ein weiteres Stadium der Verdauungsprozesse und entstehen aus den Nahrungsvacuolen.

Über die Natur der feinen Körnchen, die sich mit Neutralrot färben, bemerke ich, daß sie mit denjenigen identisch sind, die sich mit essigsaurem Hämatoxylin rot färben (sog. Bütschli'sche Körnchen, Volutin von Arth. Meyer). Ähnliche Körnchen kann man auch auf den Schnittpräparaten beobachten, die mit Erythrosin-Methylenblau charakteristisch gefärbt sind. Sie zeigen im Durchschnitt einen dunkel gefärbten äußeren Ring, dessen Inneres etwas mehr rot ist. Diese Körnchen binden mehr Methylenblau und erscheinen fast ganz blaugrün (Taf. XIV Fig. 21 *b.*, Taf. XV Fig. 35 *n.*). Meiner Meinung nach sind all diese Körnchen untereinander identisch und Produkte der Verdauung.

Hungerkulturen wurden in der Weise vorgenommen, daß die Arcellen, welche am Boden des Uhrschälchens festhalten, mit durch poröse Porzellanröhrchen [1]) filtriertem Wasser gut ausgewaschen und in kleinen Uhrschälchen in der feuchten Kammer aufbewahrt wurden. Täglich wechselte ich das Wasser in den Hungerkulturen und brachte die Arcellen in ein frisches Uhrschälchen. Bei diesem Verfahren traten die Hungererscheinungen bei den Arcellen ziemlich rasch und rein auf. Der ganze Hungerprozeß verlief in 5 oder 6 Tagen, worauf die Arcellen fast gleichzeitig abstarben.

Die ersten Anzeichen der Hungerwirkung sind schon nach einigen Stunden zu bemerken; die Nahrungsvacuolen und Nahrungsballen verschwinden allmählich; nach 24 Stunden kann man nur bei einigen Arcellen sehr wenig sich vital färbende Nahrungsballen konstatieren, während die Plasmakörnchen noch vorhanden sind und erst etwas später verschwinden. Mit dem allmählichen Verschwinden der Nahrungselemente verkleinert sich der Plasmakörper; der Zwischenraum zwischen dem Plasmakörper und der Schale vergrößert sich daher sehr. Eine Vakuolisation des Plasmas, die während des Hungers bei Paramäcien [2]) so charakteristisch hervortritt, fehlt den hungernden Arcellen fast völlig.

Auch die Chromidialsubstanz erleidet starke Veränderungen. Der morphologische Metabolismus der Chromidialsubstanz ist beim

---

[1]) Mit den notwendigen Tonerderöhrchen, ebenso mit Apparaten für Sauerstoffexperimente hat Herr Prof. O. Bütschli mich freundlich versehen.

[2]) Khainsky, A.: Physiologische Untersuchungen bei Paramaecium caudatum. Arb. a. d. zoot. Laborat. d. Univ. Warschau Bd. 35 1906; kurzer Auszug Biol. Centralbl. Bd. 30 1910,

Hungern unzweifelhaft durch starke chemische Umwandlungen ihrer Stoffe bedingt; die chemischen Umwandlungsprozesse der Chromidialsubstanzen verändern die physikalischen Eigenschaften und rufen gewisse morphologische Veränderungen hervor. Die Chromidialsubstanz, welche im normalen Zustand der Arcellen eine ziemlich kompakte Masse bildet und im allgemeinen in Form eines Ringes in den peripherischen Plasmaring eingelagert ist, zerfließt beim Hungern diffus im ganzen Plasmakörper. Die diffus verbreitete Chromidialsubstanz ist anfänglich etwas ungleichmäßig verteilt, später verbreitet sie sich ganz gleichmäßig durch das Plasma. Beim längeren Hungern erschienen in dieser diffusen Masse feine Körnchen (Taf. XV Fig. 34), in welchen die ganze Chromidialmasse allmählich zerfällt (Taf. XV Fig. 32). Dieser Prozeß kann so abgeändert sein, daß die Chromidialsubstanz zunächst in mehr oder weniger große Teilstücke von runder bis elliptischer Form zerfällt. Diese Teilstücke färben sich sehr schwach und weisen eine vacuoläre Struktur auf (Taf. XV Fig. 32, 33 a). Im weiteren Verlaufe färben sie sich immer schwächer und schwächer, bis sie schließlich gänzlich verschwinden. Bei den successiven Veränderungen dieser Teilstücke können die erwähnten Körnchen sich auch in den einzelnen Stückchen der Chromidialsubstanz bilden; dann liegen sie zwischen den Vacuolen (Taf. XV Fig. 33 b u. c). Die Arcellen sterben jedoch früher ab, bevor die ganze Chromidialsubstanz ihre Metamorphose durchläuft. Die Körnchen, welche aus der Chromidialsubstanz beim Hungern sich entwickeln, färben sich mit Erythrosin-Methylenblau blaß rosa-rot oder schwach blau-grün; sie zeigen fast immer einen blauen äußeren Ring und eine schwach rötliche innere Masse.

Der Kern erfährt beim Hungern keine wesentlichen Veränderungen. Man bemerkt im Kern fast immer eine Vermehrung der Körnchen, so daß sie ihn ganz erfüllen, ähnlich wie bei der Kernteilung. Die Binnenkörper können sich sehr verkleinern (Taf. XV Fig. 34 *k*), bei längerem Hungern aber werden sie recht groß. Gegen Ende des Hungerns tritt eine Vacuolisation des Binnenkörpers auf (Taf. XV Fig. 32 *k*). Die Arcellen waren bei meinen Experimenten fast immer vielkernig, obwohl eine Vermehrung nur sehr selten im Anfang des Hungerns in einigen Kulturen beobachtet wurde. Der Kern erhält sich bis zum Tode und erhält sehr unregelmäßige Umrisse. In den Schalen der jungen Arcellen entwickelt sich die braune Substanz während des Hungerns nicht.

Sehr ähnliche Resultate ergaben Experimente über die Einwirkung von Sauerstoff. Bei der Sauerstoffeinwirkung verschwinden

die Nahrungselemente allmählich und das Plasma nimmt ab. Die morphologischen Veränderungen der Chromidialsubstanz treten nicht so deutlich hervor wie beim Hungern; jedenfalls aber erleidet die Chromidialsubstanz sehr wesentliche und starke Veränderungen. Die äußerlichen Merkmale ihrer Veränderung bestehen darin, daß sie mehr und mehr vacuolisiert wird und sich diffus im Plasma verbreitet. Die Kerne sind recht widerstandsfähig gegen Sauertoff, nur die Binnenkörper zeigen eine Vacuolisation verschiedener Intensität nach längerer Einwirkung.

Wie beim Hungern, so wird auch bei der Sauerstoffeinwirkung die Chromidialsubstanz einer chemischen und mit ihr verbundenen morphologischen Metamorphose unterworfen, die vollständige Umwandlung, Zerfall und Verschwinden der Chromidialstoffe zur Folge hat. Den Experimenten nach unterscheidet sich somit bei Arcellen die Chromidialsubstanz sehr wesentlich und prinzipiell vom Kern und Plasma.

Über die Chromidialsubstanz.

Die Chromidialsubstanz hat schon eine längere Geschichte. Seit Hertwig's [1]) Untersuchungen, in welchen er eine Chromatinähnlichkeit der Chromidialsubstanz vermutet, sind viele Spekulationen vorgebracht worden. Dies beiseite lassend, wollen wir nur einiges Experimentelle über die Chromidialsubstanz anführen. Diese hat in normalem Zustande sehr wechselnde und unregelmäßige Umrisse. Es ist unmöglich, alle Variationen ihrer morphologischen Gestaltung zu beschreiben, was auch ohne tiefere Bedeutung erscheint. Die Hauptmasse der Chromidialsubstanz, die stets in einigen Partien von verschiedener Größe und Form zerteilt ist, liegt im peripherischen Plasmarande und entsendet verschiedenartige Ausläufer in das Plasma hinein. Die Nahrungsvacuolen und -ballen, Kerne und andere Plasmabestandteile beeinflussen die Chromidialsubstanz und machen ihre äußeren Formen noch variabler. Ihre Menge scheint bei normalen Lebensbedingungen merklichen Schwankungen unterworfen. Man findet Arcellen, die mit Chromidialsubstanz reich versehen sind, und im Gegensatz dazu auch solche, denen sie fast völlig fehlt; bei manchen Individuen beobachtet man nur zerstreute kleine Partikelchen von Chromidialsubstanz. Die feinere histologische Struktur der Chromidialsubstanz ist unter normalen Bedingungen auch veränder-

[1]) Hertwig, R.: Über Encystierung und Kernvermehrung bei *Arcella vulgaris*. Festschrift z. 70. Geburtstag von C. v. Kupffer 1899.



lich. Meist hat die Chromidialsubstanz eine alveoläre Struktur, die sehr ungleichmäßig ist, da die Alveolen selbst von verschiedener Größe und Form sind (Taf. XIV Fig. 21 *ch*). Die Grundsubstanz, der die Alveolen eingelagert sind, färbt sich intensiv mit Methylenblau, während der Alveoleninhalt eine blasse blaue Färbung hat. Die Grundsubstanz kann sich anhäufen und blaue in verschiedenen Richtungen faserartige Züge bilden (Taf. XIV Fig. 22 *ch*). Bei einigen Arcellen vermochte ich überhaupt keine innere Struktur der Chromidialsubstanz zu unterscheiden, so kompakt und homogen erschien die Chromidialmasse.

Zerfallerscheinungen der Chromidialmasse traten auch normalerweise häufig auf. Zum erstenmal beobachtete ich diesen Zerfall in mehr oder weniger großen sphäroidalen oder ellipsoidalen Stücken bei conjugierenden und sich teilenden Arcellen. Später bemerkte ich, daß diese Erscheinung immer dann eintritt, wenn die Arcellen nicht viel Chromidialsubstanz hatten. Übrigens findet man häufig Individuen, wo sich neben den größeren Zügen von Chromidialsubstanz sphärische Partikelchen solcher finden. Außerdem treten zuweilen in der Chromidialsubstanz selbst Körnchen auf, die in der vacuolären Masse deutlich zu sehen sind (Taf. XV Fig. 35). Daraus folgt, daß die Chromidialsubstanz in ihrem gröberen und feineren Bau und ihrer Menge s e h r i n k o n s t a n t ist.

Der Färbungscharakter der Chromidialsubstanz war bis jetzt das einzige Kriterium, durch welches sie mit Kernsubstanzen identifiziert wurde. Aber die gleiche Färbung kann keinen definitiven Beweis der physiologischen und morphologischen Identität der Kern- und Chromidialsubstanz liefern, besonders bei Anwendung von Karminfarben. Borax- und Alaunkarmin gehören zu den Farblacken,[1]) d. h. salzartigen Verbindungen von Beizen und Farbstoffen. Borax- und Alaunkarmin färben die Zellelemente diffus und die Färbung zeigt rein physikalischen Charakter, d. h. die Färbung ist von der intermolekularen Porengröße abhängig.[2])

Erythrosin-Methylenblau-Färbung ergibt eine deutliche Differenzierung zwischen der Chromidialsubstanz und Kern. Beide weisen auch einen Farbenunterschied bei der Flemming'schen Dreifachfärbung, sowie Hämatoxylin-Eosin-Färbung auf. Die Chromidialsubstanz nimmt nur Gentianaviolett und Hämatoxylin auf, während

[1]) Mierzinski, St.: Handbuch der Farbenfabrikation. Bd. 2. Kapitel über Lackfarben. Leipzig 1898.

[2]) Pappenheim, A.: Grundriß der Farbenchemie zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. Berlin 1901 S. 131.

die Kerne mehr oder weniger roten Farbstoff aufnehmen. Bei der Erythrosin-Methylenblau-Färbung tritt aber die Farbendifferenz stets sehr charakteristisch auf. Die Chromidialsubstanz erscheint einfach blau, während der Kern metachromatisch tingiert erscheint. Die Binnenkörper und die Körnchen des Kernraumes färben sich meist reinrot mit Erythrosin; diese rote Farbe verändert sich jedoch um so mehr, je mehr Methylenblau hinzukommt. Man kann alle Farbennuancen von rot bis rot-violett beobachten, die wohl in Abhängigkeit vom derzeitigen physiologischen Kernzustand stehen. Besonders klar tritt diese Nuancenänderung im Kern bei den Teilungsvorgängen auf. Auch der Macronucleus der Infusorien zeigt ähnliche Metachromasie. In der Chromidialsubstanz hingegen konnte ich nie Metachromasie beobachten; sie behält stets ihren blauen Ton. Bemerkenswert ist, daß die Chromidialsubstanz sich mit Methylenblau sehr intensiv und rasch färbt: eine 0,001 proz. Methylenblaulösung ergibt nach einigen Sekunden merkliche Färbung der Chromidialsubstanz. Sie hat so große Affinität zu Methylenblau, daß letzteres das Hämatoxylin verdrängt und in Alkohol nicht ausgewaschen werden konnte. Die Chromidialsubstanz ist also cyanophil und stark basophil. Cyanophilie koincidiert mit Basophilie zwar öfters, aber keineswegs ist sie mit ihr identisch.[1]) Es ist insofern wichtig, als die Chromidialsubstanz mit Karminen ähnlich wie der Kern sich färbt, somit gleich cyanophil ist, während ihren chemischen Eigenschaften (Basophilie) nach sie sich wesentlich vom Kern unterscheidet.

Diese Schlußfolgerung bestätigten auch die Hungerexperimente und die Experimente mit Sauerstoff. In beiden Fällen war die Chromidialsubstanz Veränderungen unterworfen, die sich prinzipiell von den Kernveränderungen unterscheiden. Ähnliche Veränderungen der Chromidialsubstanz findet man bei Arcellen auch unter normalen Lebensbedingungen, wie sie Martini[2]) beschrieb und auch ich beobachtete. Diese Veränderungen der Chromidialsubstanz sind nicht von Bakterien hervorgerufen, wie Martini meinte, sondern wohl mit Störungen der normalen Verdauungsvorgänge verbunden, wie ich experimentell feststellen konnte.

Auf Grund aller angeführten Tatsachen schließe ich, daß die Chromidialsubstanz in engster Beziehung zur Ernährung steht und aktiv am Verdauungsprozeß teilnimmt. Die Nahrungsvacuolen, Nahrungsballen und andere Körnchen, die im Plasma zerstreut liegen,

---

[1]) Pappenheim, A.: Ebenda S. 177.

[2]) Martini, E.: Beobachtungen an *Arcella vulgaris*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 79 1905.

färben sich mit Methylenblau ganz ähnlich, wie die Chromidialsubstanz, und unterscheiden sich histologisch nur durch ihren Bau. Aber wir wissen, daß die Chromidialsubstanz morphologisch sehr veränderlich ist und unter normalen Lebensbedingungen in Körnchen von verschiedener Größe zerfallen kann. Die Versuche — die Chromidialsubstanz mit Pepsin und Pankreatin zu behandeln — ergaben interessante Erscheinungen. Die Chromidialsubstanzelemente färben sich nach der Behandlung mit diesen Stoffen, wie die Körnchen; die einzelnen Teilchen der Chromidialsubstanz haben die mit Methylenblau gefärbte äußere Zone, welche mit rotgefärbter Substanz erfüllt ist. Ich meine, daß die Verwandtschaft zwischen den Körnchen und der Chromidialsubstanz unzweifelhaft nachgewiesen ist. Ob die Chromidialsubstanz durch das Zusammenfließen dieser Körnchen sich bildet, oder ob umgekehrt die Chromidialsubstanz die Körnchen produziert, ist noch zu untersuchen. Jedenfalls spielen beide — Chromidialsubstanz und Körnchen — eine wichtige Rolle in den Verdauungsprozessen bei Arcellen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor O. Bütschli an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank für seine stets wesentlichen Ratschläge und unaufhörliche Unterstützung bei Ausführung meiner Arbeit auszusprechen. Ich danke ferner bestens für freundliche Förderungen Fräulein Dr. Cl. Hamburger und Herrn Dr. E. Widmann, die sich für meine Arbeit sehr interessierten.

Tafelerklärung.

Tafel XIV.

Fig. 1. Die jungen frischgebildeten Häutchen und ihre alveolare Struktur. Wasserimmersion, Oc. Nr. 3.

Fig. 2a. Schnitt einer Arcella, die eine pulsierende Vacuole hat und den alveolaren Randsaum zeigt. Zeichenapparat. Obj. Nr. 8, Oc. 3.

p. v. pulsierende Vacuole; *x.* Nahrungsvacuole mit violet gefärbten Körnchen; *k.* Kerne; *ch.* Chromidialsubstanz; *p. k.* Körnchen; *N. v.* Nahrungsvacuole; *r. s.* alveolarer Randsaum.

Fig. 2b. Ein Stück derselben Arcella bei starker Vergrößerung. Färbung: Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

p. v. pulsierende Vacuole; *ch.* Chromidialsubstanz; *N. v.* Nahrungsvacuole; *a. h.* äußeres Häutchen, dem alveolare Ectoplasmie unterliegt.

Fig. 3. Das junge Schalenhäutchen, welches ungleichmäßige Alveolen aufweist. Vitale Tropäolinfärbung.

Fig. 4. Die junge Schale, die hexagonale Felder enthält und Knotenpunkte zeigt. Flächenschnitt, gefärbt mit Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

Fig. 5. Der Querschnitt der Schalen. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

a. junge Schale; *b.* alte Schale.

Fig. 6. Flächenschnitt durch die Schale, bei welcher die braune Substanz sich anlagert. Imm. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

Fig. 7. Die alte Schale, bei welcher die Kammern unregelmäßig und durch die Zwischenräume verschoben sind. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

Fig. 8. Der Kern von großem Umfang, dessen Binnenkörper die Netzstruktur zeigt. Der Zwischenraum erfüllt mit Körnchen. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

b. k. Binnenkörper.

Fig. 9. a) Normaler Kern. b) Kern von vergrößertem Umfang und mit vielen Körnchen. c) Großer Kern, der mit Körnchen ganz erfüllt und keine Binnenkörper hat. Totalpräparat. Färbung: Boraxkarmin. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

b. k. Binnenkörper; *t.* Körnchen, das in zwei Teile zerfällt.

Fig. 10 a, b, c. Drei Stadien der Zweiteilung des Binnenkörpers. Totalpräparat Färbung: Boraxkarmin. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

Fig. 11. Kern mit zwei polarliegenden Binnenkörpern (*b. k.*).

Fig. 12—14. Anfangsstadien direkter Kernteilung.

b. k. Binnenkörper.

Fig. 15—17. Einschnürung des Kernes — drei successive Stadien.

b. k. Binnenkörper.

Fig. 18—20. Drei letzte Stadien direkter Kernteilung.

b. k. Binnenkörper.

Die Fig. 11—20 sind nach Totalpräparaten gezeichnet. Färbung: Boraxkarmin. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

Fig. 21 a u. b. Zwei aufeinander folgende Schnitte derselben Arcella. Färbung: Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

k_1. sich teilender Kern; k_2. zwei Teile desselben sich teilenden Kernes; *Ch.* Chromidialsubstanz; *N. v.* Nahrungsvacuolen.

Fig. 22. Schnitt durch eine Arcella. Färbung: Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

k. sich teilender Kern in späterem Stadium; *Ch.* Chromidialsubstanz.

Fig. 23. Kern der Arcella. Färbung: Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

b. k. großer Binnenkörper, der feine Körnchen und Netzstruktur zeigt.

Tafel XV.

Fig. 24—27. Die successiven Stadien der Vergrößerung des Binnenkörpers (*b. k.*) im Kern. Stadien der indirekten Kernteilung. Schnittpräparate. Färbung: Fig. 24 Erythrosin-Methylenblau, 25—27 Hämatoxylin-Eosin. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

n. größere Körnchen.

Fig. 28. Die Spindelfigur im Kern. Schnittpräparat. Färbung: Hämatoxylin-Eosin. Imm. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

Fig. 29. Die Strahlenfigur und Polzentrum im Kern. Schnittpräparat. Färbung: Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 18. Z.-A.

Fig. 30. Conjugierende Arcellen, welche eine neue Arcella bilden. Totalpräparat. Färbung: Alaunkarmin. Obj. 8, Oc. 3. Z.-A.

N. A. neue Arcella; *k.* Kerne; *Ch.* Chromidialsubstanz.

Fig. 31. Bild einer vitalgefärbten Arcella. Vitalfärbung: Methylenblau-Neutralrot. Wasserimmersion, Oc. 3. Z.-A.

N. v. Nahrungsvacuolen erster Periode; *N. b.* Nahrungsballen; *n.* Körnchen.

Fig. 32. Allgemeines Bild einer hungernden Arcella. Totalpräparat. Färbung: Boraxkarmin. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

k. Kerne; *Ch.* Chromidialsubstanz — einzelne Teile; *Ch. n.* Körnchen, in welche die Chromidialsubstanz zerfallen ist.

Fig. 33. Einzelne Teilchen von Chromidialsubstanz der hungernden Arcellen, die starke Veränderungen der Struktur aufweisen.

a. Vacuolisation der Chromidialsubstanz; *b.* u. *c.* Bildung der Körnchen in Teilen der Chromidialsubstanz.

Fig. 34. Ein Stück einer hungernden Arcella, bei welcher die Chromidialsubstanz diffus verteilt ist und kleine Körnchen enthält. Totalpräparat. Färbung: Boraxkarmin.

k. Kern.

Fig. 35. Stück von Arcella. Die Chromidialsubstanz (*Ch.*) enthält Körnchen. Schnittpräparat. Färbung: Erythrosin-Methylenblau. Immers. 2 mm, Oc. 3. Z.-A.

N. v. Nahrungsvacuolen; *n.* Körnchen im Plasma.

Appareil nucléaire, chromidies, mitochondries.

Par

E. Fauré-Fremiet,

Préparateur au Muséum d'Hist. Nat. Paris.

(Avec 23 figures dans le texte.)

La „théorie chromidiale" qui eut un grand succès ces années dernières, semble perdre de son importance aujourd'hui que de nombreux travaux sont venu éclaircir la question de l'ergastoplasma et des mitochondries. Quel que soit l'intérêt théorique de l'hypothèse de Hertwig et Goldschmidt, il me semble qu'elle est fondée sur deux faits qui n'étaient pas nouveaux, sur des observations qui ne sont pas démontrées, sur une hypothèse gratuite, et sur un concept à priori.

Deux faits qui ne sont pas nouveaux: à savoir: 1° que le noyau exerce une influence constante sur le cytoplasma, ce qui est évidemment prouvé par les expériences de Balbiani et de Verworn et par un grand nombre d'observations; 2° la présence dans le cytoplasma de granulations et de filaments colorables, que Garnier Bouin et Prenant avaient décrit sous le nom d'ergastoplasma.

Des observations qui ne sont pas démontrées: à savoir que les granulations chromatiques sortent du noyau, se répandent dans le cytoplasma et peuvent dans certains cas reconstituer de nouveaux noyaux, ce qui est fortement discuté ou formellement contredit.

Une hypothèse gratuite: à savoir que des granulations cytoplasmiques fortement colorables et supposées issues du noyau sont nécessairement de nature chromatique.

Un concept à priori: à savoir la substance colorable du noyau considérée comme une entité qui n'est ni chimique, ni physique, ni morphologique, ni physiologique, mais purement conceptuelle et vaguement synthétique et qui peut devenir une dualité dont le fonctionnalisme hypothétique s'exprime par deux mots tirés du grec: *trophochromatine* et *idiochromatine.*

Il semble nettement démontré aujourd'hui:

1° Que l'ergastoplasma, les mitochondries et les chromidies ne sont *souvent* qu'une seule et même chose (ex.: cellules sexuelles, Protozoaires).

2° Que ces formations sont essentiellement cytoplasmiques, et que, si leur évolution est parallèle à celle du noyau, elles ne proviennent jamais de celui-ci.

Mais la théorie chromidiale trouve ses derniers retranchements dans l'appareil nucléaire des Protozoaires dont l'évolution est si complexe chez les Sporozoaires, et dont le dualisme est indiscutable chez les Infusoires ciliés. Quelle que soit ici la valeur des mots tropho- et idio-chromatine, ils répondent bien à un fait. Qu'est-ce donc que le macronucléus d'un Infusoire cilié, lequel ne joue aucun rôle dans les phénomènes sexuels et semble indispensable à l'accomplissement des phénomènes de nutrition et d'élaboration; qu'est-ce que le micronucleus, dont le premier dérive, et qui reste l'élément principal de la reproduction sexuelle?

J'ai exposé dans un mémoire ce que l'on sait sur l'appareil mitochondrial des Infusoires ciliés. Je voudrais aujourd'hui montrer comment se pose la question de leur appareil nucléaire, et dans ses grandes lignes, la question plus générale de l'idio- et de la trophochromatine, me réservant d'y revenir en détail dans un mémoire étendu. C'est pourquoi le lecteur ne trouvera aucune indication bibliographique dans cet article. Je dois ajouter cependant, que plusieurs de mes conclusions sont précisément celles auxquelles sont arrivés déjà Russo, Comes et Giglio-Tos, au moins en ce qui concerne la signification de l'appareil nucléaire des Ciliés.

I. La Dualité nucléaire chez les Infusoires ciliés.

L'un des principaux arguments de la théorie chromidiale restera nécessairement la dualité de l'appareil nucléaire des Infusoires ciliés, à laquelle on a beaucoup attaché d'importance. Le fait est là, certain; un Protozoaire, une simple cellule, possède deux noyaux et chacun de ces noyaux semble chargé d'une fonction distincte; l'un présidant au métabolisme, l'autre à la multiplication; l'un contenant la trophochromatine, l'autre contenant l'idiochromatine. Cependant, dira-t-on, la fait n'est pas absolument général, et l'on connaît des Infusoires renfermant une seule sorte de noyau. Sans doute, mais nous verrons deux cas chez lesquels cette confusion, seulement transitoire, montre qu'ici encore l'exception confirme la règle. En réalité, on se heurte ici comme en bien d'autre cas, à une question de mot. Sans incriminer en aucune sorte la théorie cellulaire nous devons nous défendre contre l'interprétation trop formaliste d'un concept qui exprime un certain nombre de faits. Oui, l'Infusoire cilié est une cellule, mais une cellule si complexe que son unité couvre déjà les deux éléments caractéristiques du Métazoaire: le soma et le germen.

Examinons d'abord les exceptions à la règle. On sait que chez certains Infusoires, le micronucleus n'a pas été décrit. Il est dangereux d'en conclure qu'il n'existe pas. A. W. Loewenthal l'a vu se séparer du noyau chez les jeunes Opalines avant la conjugaison

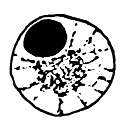
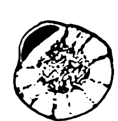
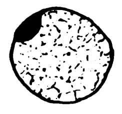
  

Fig. 1.
Trois stades de l'évolution d'une „formation micronucléaire“ dans un noyau d'*Opalina ranarum* (d'après W. Loewenthal).

(fig. 1). L'étude du noyau de *Strobilidium gyrans*, qui à mon sens, n'a pas été compris par Enriquez, est intéressant à cet égard. Chez cet Infusoire, l'appareil nucléaire est constitué par un boudin ininterrompu au moment de la division, renfermant des granulations chromatiques uniformément distribuées (fig. 2, B II). Il m'a été impossible de découvrir à côté le micronucléus douteux signalé par Enriquez. Si nous examinons une forme voisine, le *Strombidium turbo*, nous voyons que l'appareil nucléaire de cette

espèce est constitué par deux masse macronucléaires d'égal volume entre lesquelles se trouve situé le micronucléus (fig. 2, A); cette disposition rentre donc dans le schéma général commun à la majorité des Ciliés. Le noyau du *Strobilidium* lui aussi appartient à ce schéma général. En effet, si l'on considère les stades qui succèdent à la division (fig. 2, B), on voit que le boudin nucléaire se segmente en trois tronçons qui restent unis; peu à peu, les segments extrêmes s'accroissent en longueur au dépends du segment moyen qui se réduit jusqu'a devenir sphérique. La disposition est alors identique (fig. 2, B V) à celle du *Strombidium* et je crois pouvoir

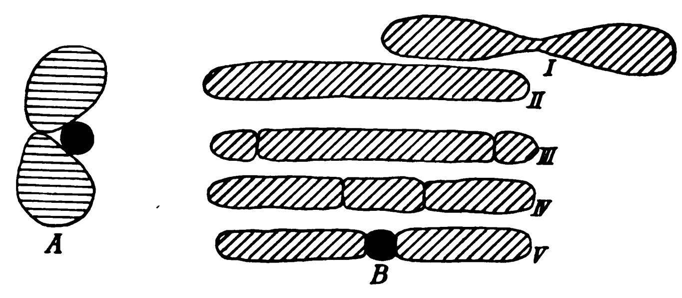


Fig. 2.

A. Appareil nucléaire du *Strombidium turbo* montrant un macronucléus bilobé (gris) et un micronucléus situé entre les deux lobes (noir). B. Appareil nucléaire du *Strobilidium gyrans*. I. Division. II. Noyau après la division. III et IV. Formation des compartiments et réduction progressive du compartiment central. V. Différenciation d'un micronucléus entre deux les lobes du macronucléus.

homologuer le segment central à un micronucleus capable d'évoluer séparément au moment de la conjugaison. Mais s'il se produit une division pure et simple, ce micronucléus transitoire se fond avec la masse du macronucléus par dissolution de la membrane qui les sépare, et le noyau redevient un boudin unique et homogène qui se concentre et se coupe en deux parties égales appartenant chacune à l'un des nouveaux individus.

La dualité nucléaire existe donc aussi bien chez cette espèce que chez les autres Infusoires ciliés.

Voyons maintenant ce qui caractérise les deux noyaux d'un Infusoire, et ce que signifie cette dualité de l'appareil nucléaire.

Considérons l'appareil nucléaire d'un Infusoire après la conjugaison, et faisons abstraction des éléments qui disparaissent par dégénérescence. Nous voyons deux micronucléi considérés l'un comme

étant ♂ et l'autre comme étant ♀ se réunir et donner un noyau qui se divise par mitose, sans entrainer la division du corps cellulaire. Le résultat de cette division sera la différenciation à plus ou moins bref délai: 1° d'un petit noyau à contenu le plus souvent homogène qui se divisera toujours par mitose, c'est à dire par un processus compliqué comprenant la différenciation d'un peloton chromatique qui se divise en chromosomes, et d'un fuseau achromatique à chaque extrémité duquel se trouve un centrosome plus ou moins apparent (fig. 3 et 4); 2° d'un gros noyau à contenu granuleux avec de gros

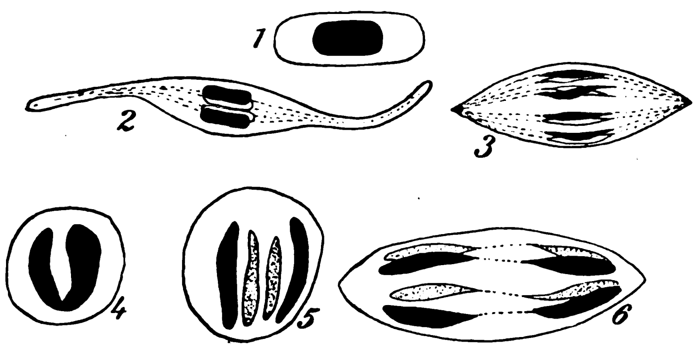


Fig. 3.

Structure du micronucléus. 1. Micronucléus au repos. 2 et 3. Deux stade de la formation des chromosomes (division longitudinale et stade de tonnelet) (*Loxodes X...*). 4 et 5. Deux stades de la formation des chromosomes et de leur division longitudinale. 6. Division transversale (*Boveria* d'après Stevens).

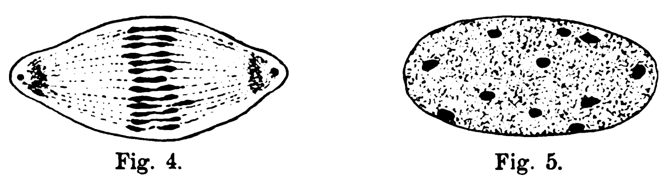


Fig. 4. Fig. 5.

Fig. 4.

Micronucléus de *Carchesium* en mitose (fin de la métaphase); on distingue les centrosomes, le fuseau achromatique et les chromosomes en division transversale.

Fig. 5.

Macronucléus d'Infusoire. Contenu uniformément granuleux avec nucléoles.

nucléoles, qui se divisera toujours par étranglement sans remaniement de son matériel chromatique (fig. 5). L'observation et l'expérience montrent que le micronucléus joue seul un rôle véritable dans la reproduction sexuelle de l'Infusoire, et que le macronucléus

est nécessaire au métabolisme de la cellule. En un mot ces deux noyaux ont une commune origine, mais leur structure, leur mode de division et leur rôle, sont distincts et différents.

Considérons maintenant l'évolution d'un Métazoaire en ne tenant compte que de quelques uns des ses éléments. Nous voyons deux pronucléi ♂ et ♀ se fusionner dans l'œuf et donner le premier noyau de segmentation qui se divise par mitose. Après un certain nombre de divisions, nous verrons dans le jeune Métazoaire deux sortes de noyaux; 1° dans les cellules germinatives par ex., des noyaux à contenu chromatique d'aspect variable, qui se diviseront toujours par mitose, c'est à dire après différenciation d'un peloton chromatique qui se scinde en chromosomes, et d'un fuseau achromatique qui sera en rapport avec les centrosomes; 2° dans des cellules glandulaires p. ex., de gros noyaux granuleux avec de gros nucléoles, qui pourront soit se diviser par simple étranglement sans aucun remaniement du matériel chromatique, soit se ramifier par bourgeonnement, soit grossir jusqu'à une certaine limite et ne plus jamais se diviser (fig. 6).

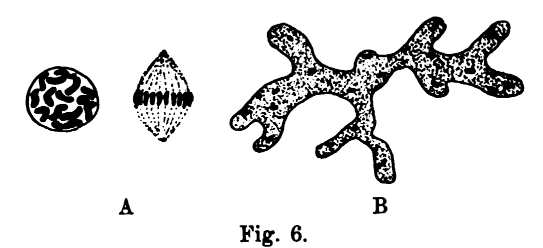


Fig. 6.

A. Noyaux de cellules adipeuses à la 3m mue (*Bombyx moi*) d'après Berlese.
B. Noyau d'une glance séricigène de Papillon.

L'observation la plus superficielle montre bien ici que les premiers seuls jouent un rôle dans la reproduction du Métazoaire, tandis que les seconds sont en rapport avec une fonction physiologiquement déterminée et jouent un rôle dans le métabolisme de l'organisme. Le parallèle entre l'Infusoire et le Métazoaire est donc complet, avec cette différence que les deux noyaux du premier évoluent dans une même enceinte cellulaire, tandis que les deux sortes de noyaux du second évoluent dans des cellules distinctes. Mais l'origine, la structure, le mode de division et le sort de ces deux sortes de noyaux sont identique chez ces deux catégories d'organismes.

Il en résulte que la distinction chez l'Infusoire d'un macro- et d'un micronucléus, remplacée chez q. q. auteurs par celles de noyaux principal et accessoire, est dénuée de sens dans le premier cas,

fausse dans le second, et qu'il vaudrait mieux les distinguer, aussi bien chez le Protozoaire que chez le Métazoaire par les termes de trophonucléus et d'idionucléus. Malheureusement, une semblable différenciation de deux espèces nucléaires, qui exprimerait un fait généralement vrai, serait beaucoup trop catégorique et ne reposerait pas, dans l'état actuel de nos connaissances, sur des données expérimentales suffisantes pour être acceptées sans restriction.

Le rôle exact de l'appareil nucléaire d'une cellule est encore inconnu; on peut seulement affirmer qu'il est complexe et que suivant l'espèce cellulaire à laquelle il appartient, il préside à des fonctions diverses; mais quelle que soit la cellule, le noyau est toujours le noyau, et il nous reste à montrer comment les deux types de structure que nous avons distingués, et qui dans bien des cas se confondent, peuvent être reliés l'un à l'autre. Pour cela, il faut se libérer le plus possible de l'obsession morphoscopique et tenter de comprendre le sens véritable des structures nucléaires que nous étudions avec trop de complaisance figée par nos réactifs et compliquée par nos colorants. Nous étudierons d'abord le type le plus simple, c'est à dire le noyau granuleux à division directe, avant d'aborder le noyau à chromosomes et à division indirecte; entre ces deux types de structure, nous montrerons que certains noyaux à contenu hétérogène constituent un intermédiaire qui ne doit pas être négligé.

II. Signification des structures nucléaires.

Noyaux du type granuleux homogène.

Au point de vue histologique, les noyaux du type granuleux, qu'ils soient un macronucléus d'Infusoire ou bien un noyau de cellule glandulaire de Métazoaire, sont constitués par une masse de microsomes dont les dimensions sont inférieures à 0,5 μ, qui, entourée par une membrane fine et résistante, renferme un certain nombre de nucléoles. Les microsomes ont une forte affinité pour les colorants basiques, les nucléoles sont acidophiles; les uns et les autres se colorent cependant par l'hématoxyline ferrique.

J'ai montré: 1° que ces microsomes existent dans le noyau vivant; 2° qu'ils ne représentent pas une structure fixe de la cellule;

3° que leur présence est liée à la réaction plus ou moins alcaline ou acide du milieu.

Les microsomes sont bien visibles *in vivo* avec l'éclairage direct; ils apparaissent beaucoup mieux si l'on utilise l'éclairage latéral ultra microscopique (Spiegelcondensor de REICHERT p. ex.). Si l'on fait agir sur la cellule vivante ou sur le noyau isolé par dilacération dans une solution de NaCl une solution $\frac{N}{1000}$ de NaOH, on constate la disparition progressive des granules, qui semblent se fragmenter en particules submicroscopiques, puis l'aspect nébuleux du contenu nucléaire parvenu à l'état amicronique. Avec une concentration de soude un peu plus forte, $\frac{N}{700}$ par ex., on observe la disparition de l'état nébuleux amicronique, et le passage du contenu nucléaire à l'état obscur. Cette transformation est essentiellement réversible, et si l'on fait agir des solutions de soude de moins en moins concentrées ou enfin des solutions salines neutres ou même l'eau distillée, on repasse en effet par le stade nébuleux amicronique, puis par le

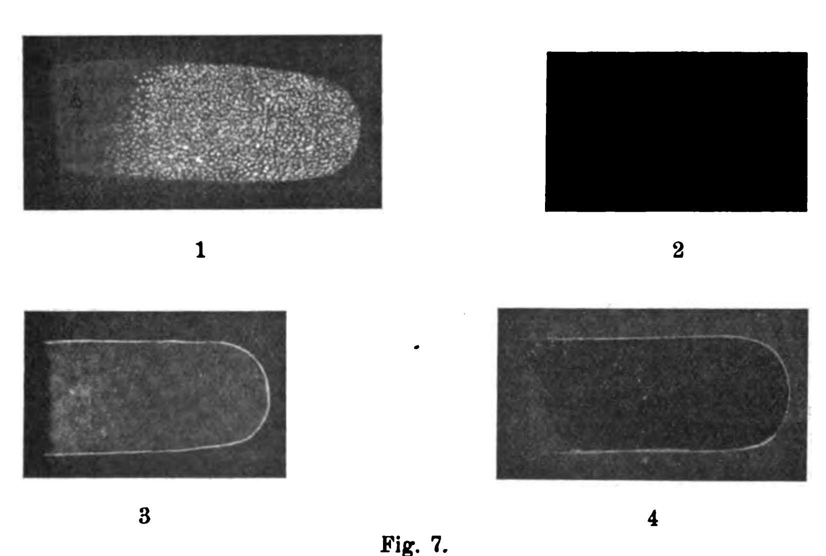


Fig. 7.

Différents aspects ultramicroscopiques d'un macronucléus d'Infusoire. 1. Etat normal; on distingue des granules et granulins qui peuvent être animés de mouvements Browniens. 2 et 3. En milieu alcalin (NaOH $\frac{N}{1000}$ et $\frac{N}{750}$) stade nébuleux amicronique. 4. En milieu fortement alcalin (NaOH $\frac{N}{500}$); disparition complète des granulins submicroscopiques. Ces aspects sont réversibles.

stade à granulins, et enfin par le stade à granules microscopiques (fig. 7); on peut recommencer l'expérience un grand nombre de fois sur le même objet. Si l'on fait agir un acide à très faible concentration, les granules grossissent un peu et la précipitation totale du liquide qui les entoure transforme le contenu nucléaire en un granulum compact qui réalise l'aspect normal de ces noyaux sur les coupes. Tout se passe donc comme si le contenu nucléaire était constitué par une solution colloïdale de la substance qui l'on nomme ordinairement chromatine, laquelle substance est précipitée par les ions H et solubilisée par les ions OH, ce qui permet, en faisant usage *in vivo* de réactifs alcalins ou acides suffisamment dilués, de la faire passer d'une manière réversible par les états de gel homogène [1]) ou de sol avec granulins et granules souvent animés de mouvements Browniens (si l'on réussit par exemple à distendre la membrane nucléaire et à diluer le liquide intermicellaire par l'eau distillée). Ajoutons que les microsomes d'un noyau soumis dans l'eau distillée à un courant électrique, se dirigent vers l'anode (+) et se comportent bien ainsi comme des éléments négatifs.

Ces variations d'aspect, qui nous permettent d'envisager une structure histologique bien déterminée sous un angle physico-chimique, et de la considérer comme dépendant uniquement de la réaction du milieu, sont souvent accompagnées de modifications plus profondes, irréversibles cette fois, et d'ordre purement chimique semble-t-il.

Si l'on fait agir des solutions de NaOH un peu plus forte que les précédentes $\left(\frac{N}{500}\text{ p. ex.}\right)$ sur les noyaux des cellules glandulaires labiales de q. q. Insectes (Hemiptères Hydrocores) on constate la disparition totale des granules et la formation en plus ou moins grande abondance de globules réfringents, vacuolaires (fig. 8). L'action d'une solution neutre ou acide fait reparaître les granules sans exercer aucune effet sur ces globules qui absorbent fortement les colorants basiques et se comportent de tout point comme des nucléoles chromatiques; ces nucléoles se massent souvent au contact du nucléole acidophile ou nucléole vrai sur lequel les faibles variations de réaction du milieu ne semblent exercer aucune influence, et il se constitue souvent de la sorte des nucléoles doubles typiques.

Il apparait donc manifestement, que toute la morphologie des noyaux du type granuleux à l'état de repos est sous la dépendance des conditions physico-chimiques ou simplement chimiques du milieu.

[1]) C'est à dire de solution colloïdale dans laquelle les particules sont intimement liées au solvant.

Nous devons considérer un instant un type de noyau assez particulier: les vésicules germinatives à la phase d'accroissement. Examinées *in vivo*, les vésicules germinatives des œufs d'un certain

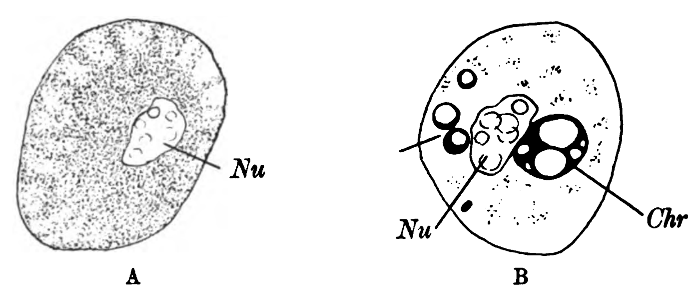


Fig. 8.

Formation des nucléoles chromatiques dans un noyau d'une cellule glandulaire labiale d'Hydrocorise. A. Noyau normal après fixation: on distingue les microsomes et le nucléole plasmatique *Nu*. B. Autre noyau trailé *in vivo* par une solution $\frac{N}{1000}$ de NaOH montrant après fixation quelques microsomes, le nucléole plasmatique et les nucléoles chromatiques *Chr*.

nombre d'Insectes et de Myriapodes par ex. présentent un contenu absolument homogène et obscur à l'éclairage latéral, sauf la présence de quelques nucléoles chromatiques et plasmatiques. L'action de

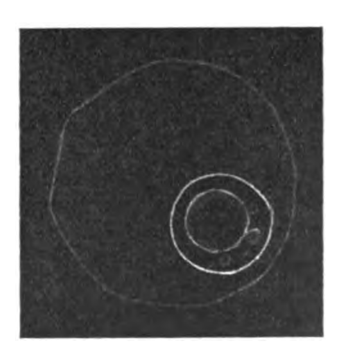


Fig. 9.

Vésicule germinative de *Lithobius* en milieu légèrement acide; le contenu est au stade nébuleux amicronique.

solutions alcalines diluées ne change pas cet état, tandis que des solutions acides très faibles font apparaître aussitôt un aspect nébuleux amicronique puis granuleux, parfaitement réversible (fig. 9).

Ces vésicules germinatives se comportent donc comme des noyaux granuleux dont l'état normal serait sinon légèrement alcalin (on y constate précisement les nucléoles basophiles dont nous venons de voir la formation expérimentale sous l'action de NaOH) du moins parfaîtement neutre. Il est de fait que les colorants vitaux les plus sensibles comme indicateurs (rouge neutre, bleu de crésyl brillant) ne donnent aucun virage avec ces noyaux, tandis que avec les noyaux normalement granleux précédemment cités, ils semblent indiquer une réaction légèrement acide qui est d'accord avec nos expériences. Seulement, l'évolution d'une vésicule germinative appartient à une série de faits trop complexes pour que nous puissions en faire un type dans le présent travail.

Division directe des noyaux du type granuleux.

Les noyaux granuleux se divisent généralement par amitose (macronucléi des Infusoires) ou bien se ramifient ou se dédoublent (cellules glandulaires) ou bien même ne se divisent pas du tout. Le processus de la division directe est toujours très simple; sollicité par deux forces opposées, le noyau s'étire en deux masses reliées par un tractus qui s'amincit progressivement, puis se coupe et se résorbe. Le matérial chromatique subit peu de modifications morphologiques: on voit souvent une striation longitudinale due à l'orientation des granules en files parallèles; les nucléoles subissent

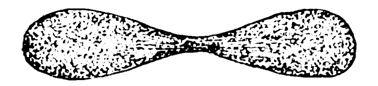


Fig. 10.
Division directe d'un macronucléus d'Infusoire, montrant la sériation des microsomes en files parallèles dans le filament unissant.

dans bien des cas une élongation passive qui disparaît aussitôt la division terminée. Dans aucun cas on ne distingue de spirème aux stades préparatoires de la division (fig. 10).

Division indirecte des noyaux du type granuleux.

Un tel mode de division a été décrit chez quelques Protozoaires (Macronucléus du *Spirochona*, noyau de la Noctiluque). A la vérité, ce mode de division est bien distinct de la karyokinèse proprement dite en ceci que l'on ne distingue jamais de stade en

peloton et qu'il ne se constitue pas de spirème; qu'il ne se forme pas de chromosomes proprement dits; qu'il ne se forme pas de fuseau achromatique; on ne saurait donc observer dans ces conditions aucun des stades caractéristiques de la mitose. Il se rapproche de la division indirecte proprement dite en ce que l'on distingue aux pôle du noyau une différenciation cytoplasmique: centrosome et sphère attractive plus ou moins différenciés, dont l'action se fait sentir par

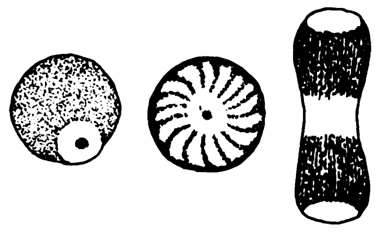


Fig. 11.
Division du macronucléus chez *Spirochona* montrant l'orientation des granules chromatiques entre les masses polaires.

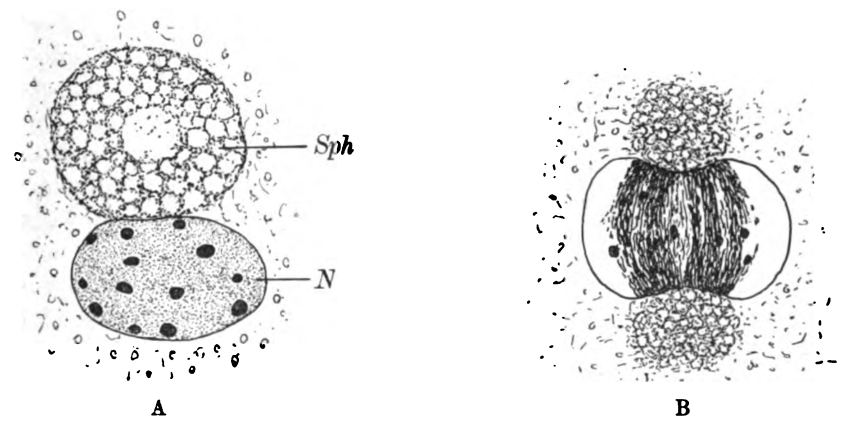


Fig. 12.
A. Noyau au repos de *Noctiluca*. *N* noyau avec microsomes et nucléoles. *Sph* Sphère attractive. B. Noyau en voie de division avec orientation des microsomes en files parallèles entre les masses polaires.

une orientation manifeste du contenu chromatique en files parallèles. Nous savons que les microsomes placés dans un champ électrique se dirigent vers l'anode, et que d'autre part les ions positifs précipitent le cytoplasma; l'examen des figures 11 et 12 montre simplement que les centres polaires, même s'ils ne se manifestent pas morphologiquement par un centrosome typique, exercent justement cette double action:

1° précipitation du cytoplasma qui les entoure et constitution de la sphère attractive, et 2° attraction des microsomes qui se rangent en séries parallèles convergeant vers chache pôle et dessinant un champ de force. Mais les microsomes ne changent pas d'aspect, les nucléoles ne sont pas expulsés, et sitôt la division terminée, les éléments chromatiques du noyau se redistribuent uniformément à l'intérieur de la membrane. Tout se passe comme si les forces polaires agissaient dans ce cas avec plus d'intensité que dans celui de la division directe d'un macronucléus d'Infusoire, sans qu'aucun fait nouveau soit apparu dans les phénomènes intimes de la division nucléaire.

Noyaux du type granuleux hétérogène.

Les noyaux granuleux que nous venons d'étudier renferment des microsomes chromatiques également distribués dans toute leur masse; nous savons quelle est la valeur de ces microsomes, et nous pouvons les considérer comme les granules d'une solution colloïdale de chromatine (sens histologique) à l'état de sol. Nous pouvons donc admettre que cette solution colloïdale de chromatine remplit également tout le noyau. Dans un certain nombre de cas il n'en est plus ainsi, et le noyau semble renfermer deux liquides non miscibles: 1° un liquide homogène, obscur avec l'éclairage latéral, mais dans lequel les acides et les divers précipitants déterminent un fin granulum; 2° une solution colloïdale de chromatine identique à celle des noyaux précédemment décrits formant soit une masse centrale avec prolongements amiboïdes (*Hoplitophrya lumbrici*) soit une couche pariétale avec tractus ramifiés (*Colpoda x*...). Ces deux liquides peuvent être séparés d'ailleurs par une très faible tension superficielle car les nucléoles sont chez *Hoplitophrya* aussi bien parmi les microsomes que dans le liquide homogène (fig. 13).

Les noyaux des cellules intestinales du Cloporte chez lesquels on a décrit une structure alvéolaire qui apparaît nettement en effet dans certains cas présentent une disposition analogue. Si l'on examine ces noyaux vivants avec l'éclairage latéral on en voit chez lesquels le contenu tout entier du noyau paraît finement granuleux ou seulement nébuleux et amicronique, tandis que chez d'autres, les granules sont disposés en un réticulum à larges mailles, ou, plus vraisemblablement dans les lamelles qui limitent des alvéoles. A l'aide de solutions très faibles de NaOH on peut faire disparaître ou réapparaître ces granules sans détruire les parois alvéolaires, mais si l'on fait agir

des solutions plus fortes, ou bien spontanément au cours de l'autolyse, on peut voir toute la masse des microsomes se transformer en une substance visqueuse à forte tension superficielle qui se ramasse peu à peu en boulettes vacuolaires basophiles identiques aux nucléoles chromatiques dont nous avons dit la genèse expérimentale dans les noyaux glandulaires des Hydrocorises. Ici encore par conséquent, les granules de la solution colloïdale de chromatine ne sont pas

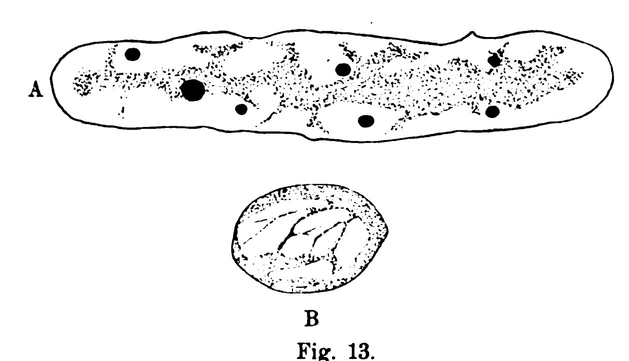


Fig. 13.
Noyaux granuleux hétérogènes. A. Macronucléus d'*Hoplytophrya lumbrici*. B. De *Colpoda X* ....

également répartis dans toute la masse du noyau dont une grande part est occupée par un liquide homogène. Ces noyaux granuleux hétérogènes vont nous permettre de passer à un type bien différent en apparence des noyaux granuleux, et dont l'architecture est seulement un peu plus compliquée.

Noyaux à spirème.

Je prendrai comme type de ces noyaux celui des glandes salivaires du *Chironomus*, parce qu'il a été maintes fois décrit, et parce que sa grande taille permet de l'étudier plus facilement.

On sait que le noyau de ces cellules glandulaires renferme un très gros boyau chromatique strié transversalement qui se trouve en rapport intime à ses extrémités avec les nucléoles plasmatiques. La striation transversale a été interprétée de deux manières: qu'elle soit due à une segmentation du contenu, ou bien à l'existence d'une fibrille spirale. Mes observations me forcent à admettre la première hypothèse. Examiné avec l'éclairage latéral, le boyau chromatique du Chironome se montré constitué par une série de disques alternativement granuleux et obscurs; les solutions de NaOH $\frac{N}{1000}$ font

disparaître les granules sans détruire cette disposition en disques qui redevient visible aussitôt que le boyau revient dans un liquide neutre. Cependant, si l'on emploie des solutions alcalines plus fortes et non chlorurées, de manière à gonfler le boyau autant que possible, et si l'on reporte celui-ci dans l'eau pure ou légèrement acide, on constate la destruction du cloisonnement. Les granules ont bien reparus et sont restés basophiles, mais ils forment une couche pariétale au lieu des cloisons primitives (fig. 14). Si l'on considère

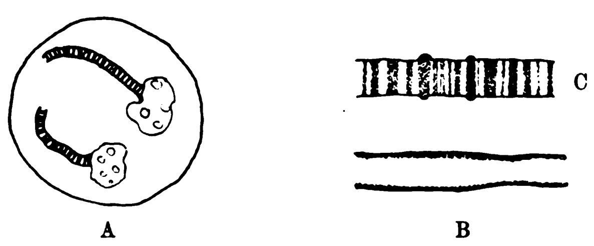


Fig. 14.

Noyau des cellules des glandes salivaires de *Chironomus*. A. Aspect schématique du noyau montrant deux fragments du boyau chromatique et les nucléoles plasmatiques. B. Aspect normal du boyau montrant les lamelles transversales de chromatine granuleuse. C. Aspect du boyau après une forte variation des tensions superficielles internes; les granules chromatiques ont une disposition pariétale.

l'étroitesse du tube capillaire constitué par la membrane du boyau chromatique, lequel tube mesure 3 μ de diamètre environ, on conçoit parfaitement que des gouttes de deux liquides non miscibles tels que ceux qui déterminent la structure hétérogène des noyaux intestinaux de l'*Oniscus* se disposent en lamelles et l'on conçoit aussi que seules, de fortes variations de tension superficielle entre ces deux liquides puissent arriver à détruire une semblable structure. Un autre exemple d'une structure analogue nous est donné par le macronucléus d'un petit Infusoire, *Glossatella tintinnabulum* qui appartient ordinairement au type granuleux homogène et qui se transforme au cours de son évolution en un long et très fin boyau dans lequel la chromatine granuleuse prend une disposition périphérique ou lamellaire tandis que le reste du noyau est occupé par un liquide homogène.

Cette simple comparaison nous conduit à cette autre conclusion: que le boyau chromatique du *Chironomus* est à lui seul comparable à un noyau en forme de boudin, enfermé lui même dans une seconde membrane nucléaire.

Karyokinèse.

Le macronucléus d'un petit Infusoire, *Glossatella tintinnabulum* présente une évolution remarquable au moment de la division et surtout de la conjugaison. N'ayant pu observer tous les stades du premier phénomène je m'en tiendrai ici à la description du second.

Le macronucleus de la Glossatelle appartient avons nous dit au type granuleux homogène. Au moment de la conjugaison ce noyau, ordinairement sphérique s'allonge de manière à former un boudin dans lequel les microsomes sont orientés en files longitudinales. Le boudin s'allonge considérablement dans les deux individus conjugués et s'amincit en même temps. La „chromatine“ que nous supposons toujours être à l'état de sol, se trouve disposée contre la membrane du noyau, ou bien suivant des lamelles transversales, sans qu'il soit besoin de faire intervenir pour expliquer semblable disposition, autre chose que des forces capillaires. Le boyau contourné sur lui même en une figure qui rappelle le spirème, se divise en deux segments égaux qui se divisent eux même jusqu'à ce que la masse entière du noyau primitif soit résolue en petites masses sphériques. Ce phénomène (fig. 15) n'est pas sans analogie avec la formation des

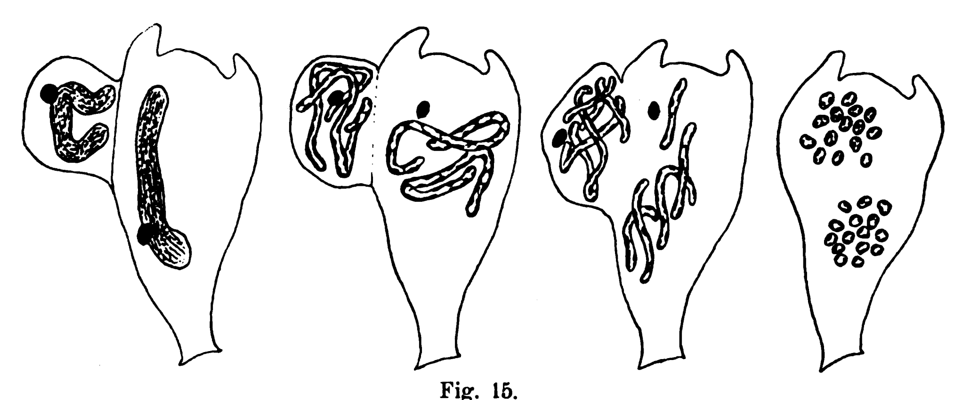


Fig. 15.
Evolution du macronucléus de la *Glossatella* pendant la conjugaison.

chromosomes pendant la prophase d'une mitose normale, à ceci près que le boyau chromatique serait en ce cas enveloppé dans la membrane du noyau primitif, qui ne disparaît que plus tard. Seulement, il n'existe pas chez la Glossatelle de figure achromatique, et pendant la division nous ne voyons pas les dispositions caractéristiques de la métaphase. L'anaphase est mieux représentée par le groupement en deux amas des petites masses chromatiques. Au cours de la

conjugaison, deux de ces amas, provenant de chacun des individus conjugués, se fusionnent vraisemblablement, puis les masses chromatiques qui les constituent se rapprochent, se fusionnent par la disparition des membranes en contact, et donnent un nouveau macronucléus (fig. 16) par un processus identique à celui décrit chez l'*Ascaris*

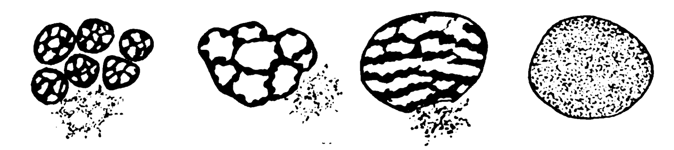


Fig. 16.
Reconstitution du macronucléus de la *Glossatella* après la division.

et chez la Truite pour la reconstitution des noyaux filles pendant la télophase de la mitose (fig. 17).

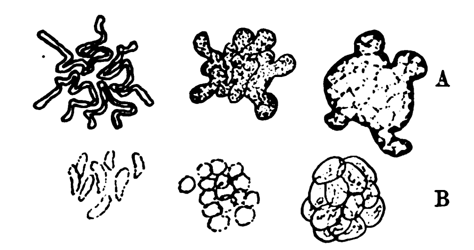


Fig. 17.
A. Reconstitution du noyau chez l'*Ascaris* après la division (d'après van Beneden et Neyt). B. Chez la Truite (d'après Henneguy).

Si nous examinons maintenant la division mitotique d'un micronucléus d'Infusoire, nous observons un processus identique à ceci près qu'une membrane primitive persiste à toutes les phases de la division, et qu'un appareil achromatique avec centrosome vient en compliquer la figure. Le micronucléus de l'*Urostyla grandis* est assez volumineux pour que l'on puisse nettement observer les faits suivants. A l'état de repos ce petit noyau est homogène est paraît uniformément et finement granuleux à l'éclairage ultramicroscopique. Nous sommes toujours en présence de la chromatine à l'état de sol. Pendant la prophase, cette masse de microsomes se concentre, se cloisonne par la formation de membranes intranucléaires et se transforme en un long boyau dans lequel les granules sont pariétaux ou disposés en lames transversales irrégulières. Ce boyau, tout à fait comparable par sa structure sinon par sa situation à celui constitué par le macronucléus de la Glossatelle, se divise comme celui-ci en un certain nombre de masses qui sont ici des chromosomes (fig. 18 et 19). L'existence de centres polaires intranucléaires, et d'un fuseau achromatique entraine leur division et leur égale répartition entre

les deux noyaux fils pendant l'anaphase de cette mitose véritable. Aux stades ultérieurs ces chromosomes se fusionnent par disparition de leurs membranes et un micronucléus homogène se trouve reconstitué.

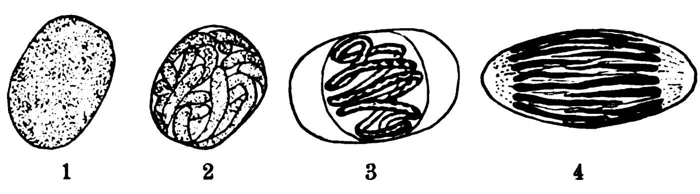
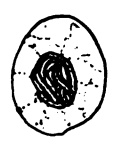


Fig. 18.
Evolution du micronucléus chez *Urostyla grandis*. 1. Aspect normal, granuleux homogène. 2. Différenciation du boyau chromatique. 3. Spirème. 4. Divison (stade en tonnelet).

Il existe donc, malgré la présence des centres polaires dans l'un et l'autre cas une profonde différence entre la division indirecte d'un noyau de Noctiluque, et celle d'un micronucléus d'*Urostyla*. Dans le premier cas, il n'existe pas de modification importante du



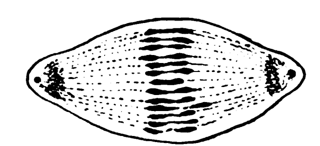


Fig. 19.
Evolution du micronucléus de *Carchesium*. 1. Stade en peloton serré. 2. Metaphase de la mitose.

contenu nucléaire, et l'on assiste simplement à une orientation des granules de la solution de chromatine. Dans le second cas on assiste à la formation, à l'intérieur de la membrane primitive, d'un boyau chromatique complexe, dont la structure et l'évolution sont absolument comparables à ceux d'un noyau véritable; que la membrane primitive persiste comme dans un micronucléus, ou qu'elle disparaisse comme au cours de la mitose classique, le fait semble de peu d'importance quant à la signification de ces deux types de structure. Cependant, on voit que ces deux types de noyaux qui diffèrent nettement par leur mode de division sous l'action des forces polaires, ont quant au fond une structure identique puisqu'ils sont essentiellement constitués l'un et l'autre par une solution colloïdale de chromatine séparée du cytoplasma par une membrane.

III. Le centrosome et son influence.

Je ne puis aborder ici la question du centrosome, et je me propose seulement d'examiner le rôle des masses polaires qui apparaissent au cours de la cytodiérèse, que celles-ci soient constituées par une sphère attractive et un centrosome ou seulement par une condensation cytoplasmique comme c'est le cas chez q. q. Protozoaires, dans l'œuf du Pigeon et même semble-t-il chez les Végétaux. Nous ne savons pas quelle est la nature de ces masses. Je rappellerai cependant qu'elles semblent correspondre à une précipitation cytoplasmique, qu'elles exercent une attraction indubitable sur la „chromatine" considérée comme un colloïde négatif, et qu'elles pourraient donc se comporter comme une accumulation de substance possédant une charge positive. Le fait important qui mérite seul d'être retenu ici, c'est que ces masses polaires peuvent être extranucléaires (*Noctiluca* et schéma classique de la mitose) ou intranucléaire (micronucléi) sans que leur action soit différente dans l'un et l'autre cas; et que d'autre part, leur action peut s'exercer non seulement sur les éléments nucléaires, mais encore sur les éléments figurés du cytoplasma tels que les mitochondries (paramitose mitochondriale des spermatocytes d'Insectes et de Mollusques, corps vitellins).

Conclusions.

Si nous nous reportons aux critiques de la théorie chromidiales exposées aux début de cet article, nous voyons que le plus solide argument de cette hypothèse est la dualité nucléaire des Infusoires ciliés, laquelle permet de fonder sur un fait indiscutable la notion de trophochromatine et d'idiochromatine, et d'identifier ensuite la trophochromatine de ces organismes (macronucléus) à la substance chromidiale des cellules sexuelles. Résumons nous sur ce point. Oui, l'Infusoire cilié possède deux noyaux, et ces deux noyaux diffèrent l'un de l'autre. L'un est un noyau granuleux, l'autre est un noyau à spirème et à chromosomes, c'est à dire à boyau chromatique. Mais nous savons que dans ces deux types de noyau la chromatine existe sous la même forme qui peut-être considérée comme exprimant son état de solution colloïdale négative. Nous savons

d'autre part que ces deux sortes de noyaux se rencontrent chez les Métazoaires dans des tissus différents et nous savons seulement que les uns se trouvent dans des cellules qui se multiplient activement, les autres dans des cellules qui se multiplient peu ou point et élaborent avec intensité. Nous savons d'autre part que les noyaux à spirème peuvent se transformer en noyaux granuleux (micronucléus des Infusoires donnant naissance au macronucléus), et qu'un noyau appartenant au type granuleux peut régénérer un noyau à spirème et à chromosome (vésicules germinatures). La distinction de la substance chromatique qui se présente toujours, elle, sous le même aspect, en deux substances distinctes telles que tropho- et idiochromatique semble dès lors bien arbitraire, et la seule conclusion qui semble s'imposer, déjà formulée par q. q. Auteurs, serait celle-ci: l'Infusoire n'est pas à proprement parler un être unicellulaire, c'est un organisme déjà très complexe mais réduit au point de vue cytoplasmique, aux limites d'une seule cellule; il ne faudrait pas en effet être à ce point l'esclave du concept cellulaire, si clair en général, qu'il puisse servir par moment à fausser nos interprétations. La dualité de l'appareil nucléaire de ces organismes perd de ce chef beaucoup de son importance (fig. 20). Cependant, poussons d'avantage notre critique.

On a admis que les chromidies étaient identiques aux mitochondries et à l'ergastoplasma, et les travaux de Goldschmidt, de Popoff, de Wassilieff etc. etc., on tenté la démonstration de l'origine nucléaire de ces formations trophochromatiques origine nucléaire qui est formellement niée par Meves, Duesberg, Gerard etc. et moi-même. L'erreur des partisants de l'origine nucléaire provient de l'observation du stade synapsis pendant lequel l'action de la sphère attractive s'exerçant à la fois sur les éléments cytoplasmiques et nucléaires montre sur les préparations qui ne différencient pas ces parties des granules colorables en contact avec les deux faces de la membrane nucléaire. Cependant, la discussion de semblables figures repose trop souvent sur des facteurs personnels pour qu'elle puissent s'arrêter avant longtemps; c'est pourquoi le fait de considérer le noyau granuleux d'un Infusoire comme représentant la trophochromatine me semble l'argument définitivement contraire à la théorie chromidiale. En effet, j'ai montré que les Infusoires ciliés ont un appareil mitochondrial très développé et absolument comparable à celui des cellules sexuelles d'un Métazoaire (fig. 21, 22 et 23); j'ai montré d'autre part que cet appareil mitochondrial est absolument indépendant de l'appareil nucléaire puisque les mitochondries

se multiplient par bipartition au moment de la division de l'Infusoire. Si les mitochondries et les chromidies ne sont qu'une seule et même

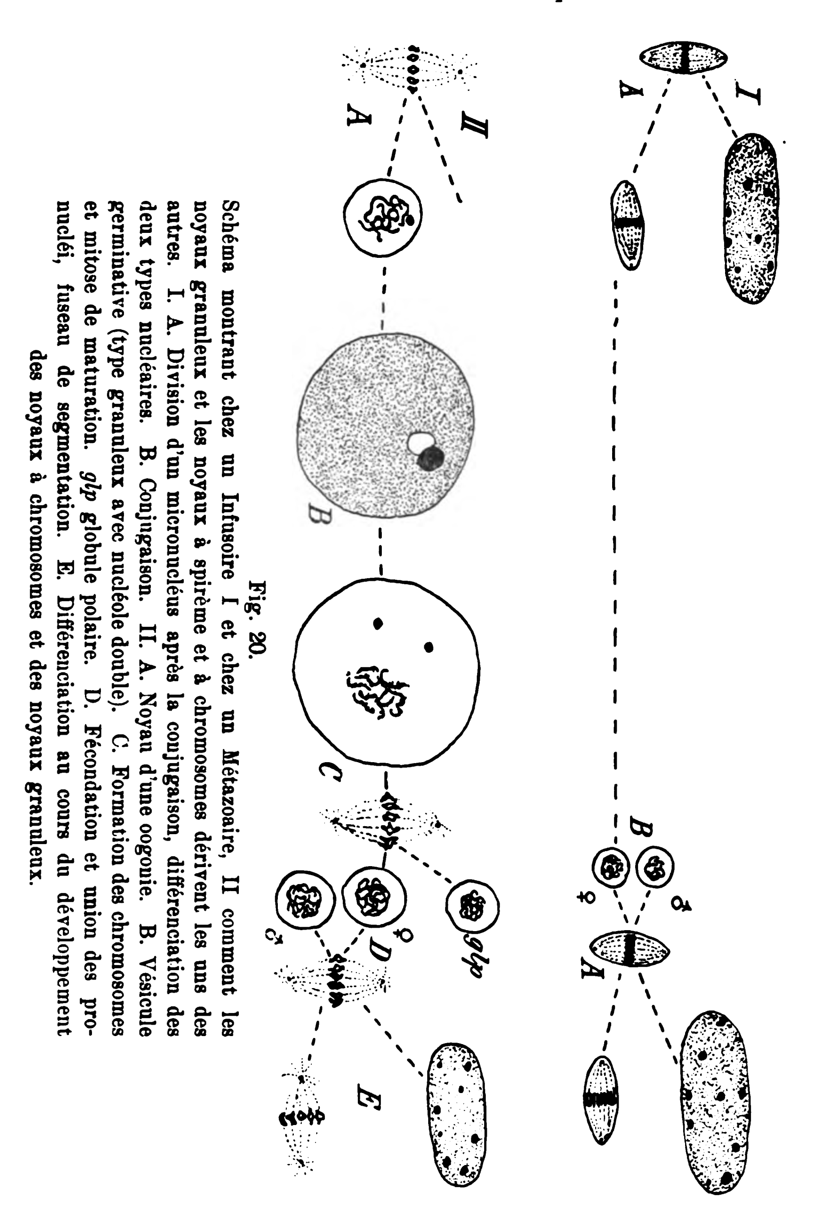


Fig. 20.

Schéma montrant chez un Infusoire I et chez un Métazoaire, II comment les noyaux granuleux et les noyaux à spirème et à chromosomes dérivent les uns des autres. I. A. Division d'un micronucléus après la conjugaison, différenciation des deux types nucléaires. B. Conjugaison. II. A. Noyau d'une oogonie. B. Vésicule germinative (type granuleux avec nucléole double). C. Formation des chromosomes et mitose de maturation. *glp* globule polaire. D. Fécondation et union des pronucléi, fuseau de segmentation. E. Différenciation au cours du développement des noyaux à chromosomes et des noyaux granuleux.

chose, l'appareil mitochondrial d'un Cilié représente nécessairement la „trophochromatine". Or si le noyau granuleux ou macronucléus de

ce même organisme correspond aux „chromidies“ des cellules sexuelles, il représente aussi la trophochromatine; ou bien, si le macronucléus

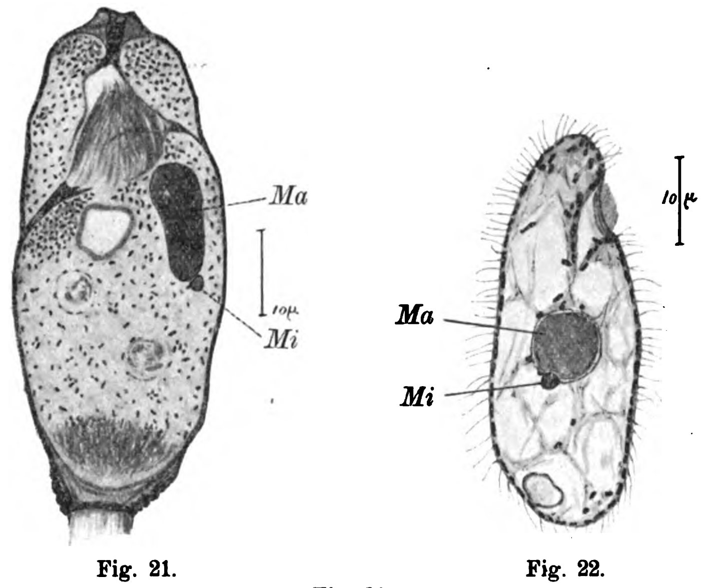


Fig. 21. Fig. 22.

Fig. 21.

Coupe de l'*Opercularia racemosa* montrant le macronucléus *Ma*, le micronucléus *Mi* et les mitochondries disséminées dans le cytoplasma.

Fig. 22.

Coupe du *Glaucoma piriformis* montrant le macronucléus *Ma*, le micronucléus *Mi* et les mitochondries dans le cytoplasma et contre l'ectoplasma.

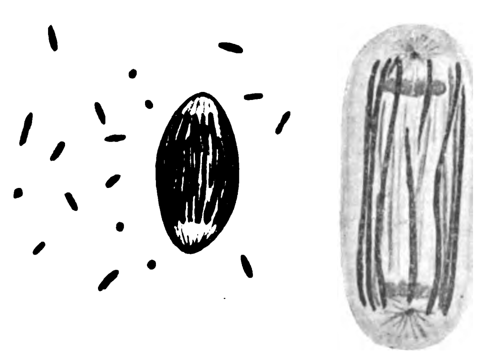


Fig. 23.

A. Division simultanée du micronucléus et des mitochondries (chondriosomes) chez *Urostyla grandis*. B. Division simultanée du noyau et des mitochondries (chondriochontes) chez un spermatocyte de *Pyrrochoris opterus*.

représente la trophochromatine et si les chromidies la représentent également, le macronucléus représente les chromidies qui sont déjà représentées par les -mitochondries. Alors? *Gallus Mathii*, *galli Mathias*, nous n'en pouvons sortir sans admettre chez l'Infusoire cilié deux appareils trophochromatiques et chromidiaux. Il est bon de ne pas abuser des meilleures choses, et je ne saurais souscrire à une telle conclusion.

Paris, 20 Octobre 1910.

Lamblia sanguinis n. sp. (GONDER).

Von
Dr. **Richard Gonder**, zurzeit in Transvaal.

(Hierzu 1 Textfigur.)

Das Studium der Flagellatengattung *Lamblia* erhielt in letzter Zeit mehr Bedeutung durch Beobachtungen über dysenterische Erkrankungen, bei welchen in großen Mengen Flagellaten, insbesondere Lamblien (PROWAZEK u. BOHNE[1]) u. a.) nachgewiesen wurden. Obgleich die Frage der Pathogenität dieser Protozoen noch nicht entschieden ist, erscheint es doch wahrscheinlich, daß diese Flagellaten bei Dysenterien unangenehme Mitschmarotzer sind, welche die Krankheit womöglich in ungünstiger Weise beeinflussen.

Lamblien wurden bisher nur im Darm von Ratten, Mäusen, Kaninchen und Menschen gefunden. Auch im Magen der Wiederkäuer wurden den Lamblien ähnliche Flagellaten nachgewiesen. Ob diesen eine praktische Bedeutung zukommt, werden erst weitere Untersuchungen ergeben. Von biologischem Interesse wird ein Befund von Lamblien im Vogelblut sein, der im folgenden kurz Erwähnung finden soll.

Im Laufe dieses Jahres wurden auf dem veterinär-bakteriologischen Institut Transvaals eine Reihe von verschiedenen Vogelarten geschossen zwecks besonderer experimenteller Untersuchungen mit dem Blute dieser Vögel. Alle Vögel, deren Herzblut benutzt wurde, wurden zuvor mikroskopisch auf Parasiten und andere Or-

---

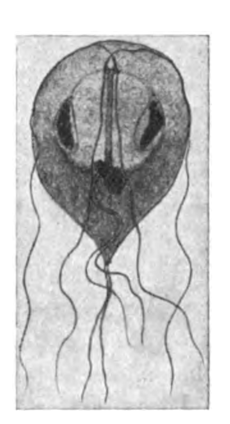
[1]) Arch. f. Protistenk. Bd. XII.



ganismen untersucht. Es traf sich, daß ein blauer Falke, *Elanus coeruleus*, eingeliefert wurde, welcher im Herzblut eigenartige, sich lebhaft bewegende Parasiten beherbergte, die sich bei genauerer mikroskopischer Musterung als Lamblien erwiesen.

Der Falke wurde frisch geschossen eingeliefert, zeigte am Kopfe und an den Flügeln Schußwunden, infolge deren er auch zugrunde ging. Natürlich lag es nahe, die Lamblieninfektion auf eine Verschleppung vom Darme aus zurückzuführen. Die mikroskopische Untersuchung des Darmes ergab ein negatives Resultat. Auch andere Organe, wie Leber und Milz, beherbergten keine Lamblien. Auch die Tatsache, daß das Blut mit Ausnahme von *Haemoproteus* in keiner Weise mit anderen Organismen, Bakterien usw., infiziert war, spricht gegen die Annahme einer Infektion vom Darme aus.

Wir hatten es also mit einem richtigen Blutparasiten zu tun, der bisher nur als Darmschmarotzer bekannt war.




Lamblia sanguinis n. sp. (GONDER).
ZEISS Mikrosk. Homog. Imm. Apochrom. 2 mm, Comp. Oc. 12.

Was unseren Parasiten (s. Textfigur) betrifft, so fand ich ihn ausschließlich im Herzlumen in nicht unbeträchtlicher Anzahl. In Ausstrichen, die von den Herzwänden gemacht wurden, war er in jedem mikroskopischen Gesichtsfeld anzutreffen. Ohne Geißeln beträgt die Länge etwa 12 μ, die Breite, vom Rücken oder Bauch aus gesehen, ca. 8 μ. Die für die Lamblien charakteristischen 8 Geißeln haben ungefähr gleiche Größe, soweit es die freien Enden betrifft, und etwa die Länge des Zelleibes, also ca. 12 μ.

Die Bewegungen sind außerordentlich lebhaft. Sie werden einmal durch das fortwährende Hin- und Herpeitschen der Geißeln be-

dingt, dann aber auch durch Kontraktionen des Zelleibes hervorgerufen. Der doppelte Achsenstab, von Bensen [1]) als Mittelrippe bezeichnet, im Verein mit einem feinen Fibrillensystem, scheint mir bei diesen kontraktilen Bewegungen eine Rolle zu spielen. Das erwähnte Fibrillensystem, welches die Basalkörperchen der Geißeln untereinander verbindet und auch mit dem Achsenstab im Zusammenhang steht, verleiht dem Flagellaten von der Seite gesehen den bekannten bilateral symmetrischen Bau, vom Rücken oder Bauch gesehen die charakteristische, birnförmige, nach der einen Seite hin stark zugespitzte Gestalt. Im Vergleich zu den anderen, bekannten Lamblien aus den Mäusen, dem Menschen usw. besitzt unsere *Lamblia* eine verhältnismäßig kleine napfartige Vertiefung, vermittels deren sie sich an den Herzwänden festzuheften vermag.

Morphologisch unterscheidet sich *Lamblia sanguinis*, wie ich diesen Flagellaten benennen will, nicht sehr wesentlich von den übrigen Lamblien. Sie gleicht am meisten *Lamblia muris.* — Die beiden Kerne sind ziemlich weit nach den Seiten hin verlagert. Ihre Gestalt ist lang gestreckt. Einem jeden liegt ein sehr gut ausgeprägtes Basalkorn direkt an, von welchem je eine äußerst zarte und feine Fibrille entspringt. Die beiden feinen Fibrillen führen zu zwei vorn gelegenen Basalkörperchen, von welchen die beiden seitenständigen Geißeln entspringen. Die Verbindung dieser beiden Basalkörner mit den den Kernen angelegenen bildet den einen Rand der napfartigen Vertiefung, oder besser gesagt, sie faßt den oberen Rand des Peristomfeldes, wie diese Vertiefung bezeichnet wird, ein.

Von den erwähnten vorderen Basalkörperchen entspringen zwei Geißeln, welche als Fibrillen nach vorn führen, sich gegenseitig überkreuzen und dann ganz am Rande des Zelleibes herlaufen, um dann an den Seiten ungefähr in der Mitte der *Lamblia* an je einem Basalkorn frei zu enden. Außer diesen Seitengeißeln entspringen an den vorderen Basalkörnerpaar noch ein zweites Fibrillenpaar, welches an der Bauchseite in ziemlich gestreckter Linie herläuft und nahe dem Hinterende zu beiden Seiten an je einem weiteren Basalkörperchen ins Freie als Geißeln führt. Beide Geißelpaare stellen das vordere und hintere Seitengeißelpaar dar.

Zwischen den vorderen Basalkörperchen liegt ein zweites Basalkörnerpaar, von welchem die Mittelrippe oder der doppelte Achsenstab entspringt. Die beiden dicht aneinander liegenden Stäbe führen in gerader Richtung nach dem Hinterende. An ihren Enden ent-

[1] Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 61.

springen ebenfalls aus einem Basalkörperpaar die beiden Schwanzgeißeln. Ungefähr in der Mitte der Mittelrippe haben endlich in einem weiteren Basalkörperchenpaar die beiden Bauchgeißeln ihren Ursprung. Letztere verlaufen anfangs parallel zueinander in geschlängelter Linie nach hinten, um dann auseinander zu gehen.

Es erübrigt noch des eigenartigen Körpers Erwähnung zu tun, welcher direkt unterhalb der Ursprungstelle des Bauchgeißelpaares liegt. Er ist von unregelmäßiger Gestalt, zeigt aber, wie auch diejenigen der anderen Lamblien, fibrilläre Struktur.

Unsere *Lamblia sanguinis* unterscheidet sich also in der Hauptsache von den bereits bekannten Lamblien durch das Peristomfeld, welches nach vorn von der Verbindung der Kerne mit dem Basalkörnerpaar der vorderen Seitengeißeln begrenzt wird und nicht von dem Fibrillenpaar, welches in die beiden Seitengeißeln überführt. Auch die Kerne sind viel weiter seitlich gelagert. Cysten konnten leider nicht nachgewiesen werden.

Beitrag zur Ätiologie und Pathogenese des *Molluscum contagiosum* des Menschen und des *Epithelioma contagiosum* der Vögel.

Von

Giuseppe Mariani,
Clinica Dermosifilopatica della R. Universita di Pavia,
geleitet von Professor Umberto Mantegazza.

(Hierzu Tafel XVI und XVII.)

Es ist nicht meine Absicht, nochmals die gesamte Geschichte der über Struktur, Pathologie und Ätiologie des *Molluscum contagiosum* des Menschen und des *Epithelioma contagiosum* der Vögel angestellten Nachforschungen aufzustellen. Ich will nur ausführen, wie, während die experimentellen Forschungen über diese Frage sehr ausgedehnt und fast erschöpfend ausgefallen sind, dagegen die Forschungen über Struktur und über Ätiologie solcher Affektionen weit davon entfernt sind, einen befriedigenden Grad erreicht zu haben. Besonders fehlt bis jetzt ein klares Gesamtbild, welches unter Vereinigung der histologischen Erscheinungen mit den mikrobiologischen die genaue Erklärung des Phänomens abgäbe. Von den neueren und wichtigen Arbeiten citiere ich außer jenen fundamentalen über die Chlamydozoen von Prowazek und seiner Schule, diejenigen von Borrel, Burnet, Bosc, Lipschütz und in Italien von Casagrande und Serra. Keine darunter ist vollständig, und in der Gesamtfrage sind viele Lücken und Ungenauigkeiten vorhanden, besonders wegen der großen Schwierigkeit in der Anwendung der gewöhnlichen Forschungsmethoden für solche Nachforschungen, und wegen der Unmöglichkeit, genau die Natur aller jener Elemente zu ergründen, die man für

parasitär hält und die fälschlich als ultramikroskopisch bezeichnet werden.

Meine Nachforschungen haben sich hauptsächlich in der Absicht bewegt, die histologischen Erscheinungen auf die gleiche Stufe mit den mikrobiologischen zu bringen, und mit Bezug auf die letzteren, nachdem ich mich von der völligen Unzulänglichkeit der gewöhnlich für die mikroparasitären Nachforschungen angewandten Methode überzeugt habe (auch Löffler's Methode, die Borrel anrät, und jene alte Methode von Giemsa, die von dem weitaus größten Teil der Autoren angewandt wird, geben bei der gewöhnlichen mikroskopischen Prüfung mit natürlichem Licht durchaus ungenaue und ungenügende Resultate), habe ich mich der Nachforschung vermittels der neuerdings für mikrobiologische Studien eingeführten Technik und Prüfung zugewandt, die bisher erst selten in Anwendung waren.

Ich gehe sofort über zur kurzen Beschreibung der von mir beobachteten Erscheinungen, einerseits vermittels Prüfung mit Paraboloid von frischen, sowie von fixierten und gefärbten Präparaten, und andererseits vermittels der mannigfachen Methoden der histologischen Technik, die besonders dahin zielen, die charakteristischen Kulminationspunkte der Entwicklung des Krankheitsprozesses des *Corpus molluscum* im Innern der Epithelialzellen und außerhalb derselben zu zeigen.

A. Prüfung der Präparate vermittels Paraboloid, frisch und nach Fixierung und Färbung.

Wenn man das Material des menschlichen Molluskum in breiigem Zustande in physiologischer Lösung frisch mit dem Paraboloid untersucht, bemerkt man eine außerordentlich große Anzahl von Körperchen in Bewegung (Fig. 1). Bei sehr frischem Material sieht man einen wahren Wirbel kleinster Teilchen, die rundlich oder ein wenig länglich geformt sind und zuweilen den Eindruck erwecken, als ob das eine Ende angeschwollen und das andere dünner, mäßig lichtbrechend ist; sie besitzen sehr lebhaft oscillierende Bewegungen, Rotation um sich selbst und Fortbewegung, Bewegungen, die sich nur schwierig mit Sicherheit von eventuellen Strömungen im Innern der flüssigen Masse des Präparats unterscheiden lassen. Oft beobachtet man, wie diese Körperchen sich fast heftig zusammenziehen, dann wieder lösen und unabhängig davon ihre Bewegung fortsetzen; sie sind meistens einzeln, zuweilen zu je zwei und zwei in kleinen Gruppen vereint; die Natur dieser Vereinigung ist schwer bestimmbar. Die

Bewegungen sind im allgemeinen um so lebhafter, je frischer das Material, je größer die Anzahl der Körperchen im Präparat und je stärker das zu ihm gelangende Licht ist. Es läßt sich im Augenblick unmöglich bejahen oder verneinen, ob diese Bewegungen der ausgedehnten Kategorie der BROWN'schen Bewegungen angehören, oder ob sie einer wirklichen und besonderen vitalen Bewegung zuzuschreiben sind. Nach einer gewissen Zeit, die zwischen wenigen Minuten und ungefähr einer Stunde schwankt, sieht man, wie diese Körperchen unbeweglich werden, und der Anblick, den sie darbieten, wenn sie die Oberfläche des Glases, auf welchem sie sich niederschlagen, bedecken, ist durchaus charakteristisch. Es ist unmöglich, sie mit irgendeinem anderen Bakterien- oder sonstigen Material zu verwechseln: Form, Dimension, Anordnung, strukturelles Aussehen sind ganz charakteristisch. Ausgesprochen rundlich oder oval, oder auch länglich mit sehr scharfen Grenzen, mit einer Art Anhängsel oder Andeutung von Kapsel versehen, von augenscheinlich kompakter und gleichmäßiger Konsistenz, ohne Erscheinung innerer Differenzierung, sehr wenig lichtbrechend, von fast milchiger Färbung, bedecken sie zu Myriaden die Oberfläche des Glases, oder sie sind einzeln verstreut, oder in kleinen Gruppen, Streifen, Bechern traubenartig angeordnet, wie auch in mehr oder minder großen Haufen vereinigt, deren Aussehen an aus einem Gefäß entwichene Elemente erinnert, die sich ungeordnet auf die Glasoberfläche ergossen haben.

Mitten aus diesem Schwarm von Körperchen heben sich die reifen, voluminösen, charakteristischen Körper des Molluscum ab (Fig. 3); teilweise sind sie noch ganz vollständig, mit scharfen Enden, von ausgesprochen granulöser Struktur, als ob sie mit Körperchen vollgepfropft wären, die alle den oben beschriebenen Charakter tragen. Betrachtet man die von der gegenseitigen Kompression herrührenden Formveränderungen, so scheinen sie auf der einen Seite der Oberfläche unversehrt, dagegen auf der anderen wie aufgeschlitzt, während sie quer um die Öffnung herum Gruppen und Anhäufungen von Körperchen aufweisen, die aus ihrem Innern herausgetreten sind.

Diese Erscheinungen lassen sich mittels Paraboloid an fixierten und gefärbten Präparaten mit größter Klarheit und Genauigkeit feststellen. Als Fixiermethoden wurden Osmiumsäure, absoluter Alkohol, Äther, Methylalkohol und Hitze angewandt. Bei der Färbung ließen sich nach GIEMSA's Methode (1909) und mit Eisenhämatoxylin die besten Resultate erzielen, ferner nach den Methoden von GOLGI und YAMAMOTO auf Grund von Silberimprägnationen. Nach GIEMSA's Methode behandelt, zeigen mit gewöhnlichem Licht beobachtete Präparate

bei 1000—1500facher Vergrößerung nur nebelhafte rötliche Haufen und Streifen, ohne daß sich im Innern irgendwelche Bildung eines Elements unterscheiden ließe; nur bei mehr als 2000facher Vergrößerung gelingt der Nachweis, daß diese Haufen und Streifen aus einer Anhäufung einer enormen Menge allerkleinster blaßrosa gefärbter Teilchen bestehen, mit etwas verschwommenen Umrissen, frei oder angehäuft, die augenscheinlich den bei der Untersuchung frischen Materials vermittels. Paraboloid gezeigten Körperchen entsprechen. Indessen ist die Anwendung dieser Beobachtungsmethode infolge der schwachen Färbung und angesichts der großen Schwierigkeit, bei so starken Vergrößerungen mit gewöhnlichem Licht Bilder von größter Klarheit zu erhalten, nicht möglich, um die Frage zu erhellen. Dagegen bestätigen sich die oben beschriebenen Erscheinungen bei der Prüfung der fixierten und gefärbten Präparate vermittels des Paraboloid mit größerer Schärfe und größter Genauigkeit. Bei GIEMSA's Präparaten nehmen die elementaren Körperchen bei dieser Prüfung eine leuchtend grüne Farbe an, die sich scharf vom dunklen Grund des Präparats abhebt (Fig. 2); bei Eisenhämatoxylinpräparaten und bei den Methoden mit Silberimprägnierung kommen die morphologischen Details zum Vorschein, welche vollständig mit jenen nach GIEMSA erzielten übereinstimmen; nur erscheinen die Teilchen beim Eisenhämatoxylin schwach grau gefärbt, bei Silberimprägnierung dagegen gelb, und zwar mit mehr oder weniger goldgelbem Ton (Fig. 4). Die Erscheinungen der einzelnen oder in Gruppen gelagerten Körperchen oder der in den Körpern des Molluscum eingeschlossenen Körperchen sind dieselben wie bei der Untersuchung frischen Materials mittels Paraboloid, doch viel augenfälliger und mit größerer Schärfe in den Umrissen. Die verschiedenen Körperchen heben sich auch im Innern der Körper des Molluscum auffällig ab; sie sind etwas länglicher als die freien Körperchen, die in langen Reihen nach verschiedenen Richtungen angeordnet sind, in mannigfacher Weise übereinanderliegend, so daß die Oberfläche wie von kurzen stufenartigen Linien verziert erscheint. Beim Konzentrieren des Brennpunktes kann man eine wahre Schichtung der Massen von Körperchen im Innern des Körpers beobachten, so daß derselbe davon ganz vollgestopft ist. Nicht alle einzelnen Körperchenelemente scheinen (wie bereits bei der Untersuchung frischen Materials mit dem Paraboloid festgestellt) vollkommen gleich an Form; einige sind rundlicher, andere länglicher oder leicht keulenförmig, oder sie zeigen, wenigstens scheinbar, zwei verdickte Enden, die durch einen dünneren Strich miteinander verbunden sind. Es läßt sich schwer behaupten,

ob diese Erscheinung auf der zufälligen Annäherung zweier Körperchen beruht oder eine Verbindung darstellt, der eventuell ein Trennungszustand entsprechen würde. Auch der Grad der Kompaktheit und Opazität weist bemerkenswerte Variationen auf; einige sind eher blaß und erscheinen fast schattenhaft gegenüber anderen von größerer Dichtigkeit, die eine lebhaftere und volle Färbung angenommen haben. Sodann erscheinen in der Mitte von Körperchen Anhäufungen, die, wie oben beschrieben, verschieden gefärbt sind, einige von ihnen ganz ohne Farbe, milchartig, eine Tatsache, die man niemals bei im Innern der Körper des Molluscum eingeschlossenen Körperchen beobachtet hat. Bedenkt man das nicht unbeträchtliche Volumen der großen reifen Körper des Molluscum und die unendliche Kleinheit der Körperchen, so kann man sich die wirklich außerordentlich große Anzahl vorstellen, die sie bilden, um diese Elemente vollzustopfen und sich daraus im Augenblick der Öffnung zu zerstreuen.

Werden die gleichen Methoden bei der Untersuchung des von *Epithelioma contagiosum* der Tauben herrührenden Materials angewandt, so erzielte man durchaus ähnliche Resultate wie beim *Molluscum contagiosum* des Menschen. Als auffälligste Unterschiede erwähnen wir nur, daß es sich bei den erkrankten Stellen des *Epithelioma contagiosum* um Körperchen handelt, die vielleicht etwas kleiner sind als beim Molluscum des Menschen und mehr gleichmäßig rund, sowie von etwas geringerer Beweglichkeit.

B. Histologische Prüfung.

Ich will mich nicht dabei aufhalten, alle Entdeckungen zu beschreiben, die vermittels der verschiedenen histologischen, für das Studium des Molluscum angewandten Forschungsmethoden erzielt wurden, ich will nur über die endgültigen Resultate referieren, zu welchen mich diese Untersuchungen führten, Resultate, die schematisch auf der Tafel XVII dargestellt sind. Bei Anwendung verschiedener Methoden erhält man komplizierte Erscheinungen, welche beim Vergleich untereinander und gegenseitiger Vervollständigung zu gleichen Resultaten führen würden. An der Tatsache festhaltend, daß, welches auch immer Pathogenese und Ätiologie des Molluscum seien, sicher eine Entwicklungsform als Abschluß eines Prozesses existiert, der schließlich zur Entstehung der wohlbekannten voluminösen Körper des Molluscum führt, will ich zwei Reihen von Erscheinungen beschreiben, um über den Ent-

wicklungsprozeß zu einer mir wohl beachtbar erscheinenden Schlußfolgerung zu gelangen.

1. Bei Beobachtung von mit Anilinblau gefärbten Präparaten bemerkt man, wenn man von der Peripherie oder der zuletzt erkrankten Stelle der Wunde zur mittelsten oder reifsten fortschreitet, Folgendes: In derjenigen Epithelialzelle, wo der Krankheitsprozeß kaum begonnen hat, bemerkt man eine grobe Granulation aus kleinen Haufen und fast voluminösen Körnern, die unregelmäßig in der Zelle zerstreut sind (Fig. 5). Je mehr sich die Beobachtung nach Stellen, in denen der Prozeß weiter fortgeschritten ist, bewegt, bemerkt man bei einem Teil, daß diese granulösen Anhäufungen und kleinen Massen immer voluminöser werden und sich allmählich in verschiedene Schollen lösen, die an Form und Größe unregelmäßig und untereinander scharf durch eine Reihe kanalförmiger farblos bleibender Räume getrennt sind, die eine Art groben Netzes bilden, in dessen Maschen sich genau die oben beschriebenen Schollen befinden (Fig. 6 u. 7). Die letzteren werden immer voluminöser und entsprechend weniger zahlreich, wie auch die sie trennenden Räume natürlich entsprechend an Zahl abnehmen (Fig. 8). Das Verhältnis von „Schollen“ und Trennungsräumen zueinander ist derart, daß die letzteren um so weiter werden, je weniger es von ersteren gibt. Dieser Prozeß läßt sich indessen mit dieser Färbung nur bis zu einem gewissen Punkte verfolgen, und außer demselben scheinen die hellen Zwischenräume in Übereinstimmung mit reifen homogenen Körpern den Teil des den oben beschriebenen Schollen entsprechenden Körpers absorbiert zu haben, welcher damit die Affinität für Anilinfarbe zu verlieren scheint (Fig. 9).

2. Bei paralleler Prüfung des Entwicklungsprozesses von mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnitten sieht man folgendes: in den Zellen, wo der Krankheitsprozeß kaum begonnen hat, bemerkt man eine beschränkte Anzahl unregelmäßiger, tiefschwarz gefärbter Körper und Massen, die auf dem farblosen Hintergrund verstreut sind. Fährt man in der Beobachtung gradweise bei älteren elementaren Teilchen fort, so bemerkt man, wie diese Körner und Massen allmählich an Anzahl zunehmen und sich derart anordnen, daß sie die Maschen eines feinen Netzes „Trabekeln“ darstellen; die freien und farblosen Zwischenräume derselben scheinen in Form und Anordnung mit den allmählich an Volumen zunehmenden, oben beschriebenen „Schollen“ vorangegangener Prüfung übereinzustimmen (Fig. 13—15). Die Maschen oder Trabekeln des Netzes werden allmählich immer stärker, kompakter aussehend und nehmen an Zahl entsprechend ab. Sie entsprechen augenscheinlich den hellen Zwischenräumen der vorher-

gehenden Beschreibung. Die Knotenpunkte der Maschen werden immer kräftiger, wobei sie das Aussehen einer komplizierten Kreuzung (Carrefour) mit mehrfachen Gliederungen annehmen, die nahe beim Knotenpunkt selbst voluminös sind und sich bei größerer Entfernung von ihr verdünnen. Das Endresultat ist, daß der ganze Körper nach und nach, wenigstens oberflächlich, wie absorbiert wird, besetzt, eingekapselt von diesen weiten Trabekeln, deren Vereinigung dem Körper schließlich ein durchaus gleichmäßiges Aussehen und undurchdringlich schwarze Färbung verleiht (Fig. 16—21). Betreffs der Struktur der vom Krankheitsprozeß ergriffenen Epithelialzelle fügen wir hinzu, daß ihr Kern, der anfangs gut erhalten, rundlich, nur zur Seite gedrängt ist, mit dem Vordringen des Krankheitsprozesses eher oval und verlängert ist und stark nach der Peripherie verdrängt wird; doch kann man ihn gut bis fast zu den letzten Reifestadien des mollusken Körpers verfolgen (Fig. 10—12). Wenn dieser den Charakter fast völliger Gleichförmigkeit angenommen hat, so dient der Kern, worin noch das chromatische Netz ganz augenfällig ist, gewissermaßen als Kapuze, die über ein Ende oder eine Seite des Körpers gestülpt ist.

Es ist nicht erforderlich hervorzuheben, wie sich diese beiden Beschreibungen gegenseitig vervollständigen, wobei die eine von ihnen gewissermaßen das Negativ des Bildes darstellt, welches die andere im positiven Sinne gibt. Augenscheinlich entsprechen die Massen, die nach und nach sich vergrößernd Schollen bilden, den Anhäufungen zahlloser elementarer Teilchen, die schließlich den ganzen Körper des Molluscum erfüllen (die Körperchen sind in den Paraboloid-Untersuchungen beschrieben). Dagegen entsprächen die Körner und chromidialen Häufchen, welche die Maschen der Trabekeln bilden, die die von den Schollenmassen eingenommenen Zwischenräume abgrenzen, der Bekleidung (um Prowazek's Ausdruck zu gebrauchen) oder der Kapsel, die allmählich die Masse des *Corpus molluscum* umschließen würde.

Diese schematische Rekonstruktion weist notwendigerweise Lücken auf, und es sind unleugbar dunkle Punkte vorhanden, die einer vollständigeren Beleuchtung bedürfen.

Um durchaus abschließende endgültige Resultate zu erhalten, müßte man das parasitäre Urelement genau bestimmen und individualisieren können, es vom Augenblick seines Eintritts in die Epithelialzelle, während seiner Entwicklung bis zur Reife und seinem Freiwerden verfolgen; man müßte die Erscheinungen, die vermittels des Paraboloides mit Prüfungen der streifenweisen Präparate erzielt werden, in rationellen und augenfälligen Zusammen-

hang bringen mit den Figuren von so schwieriger Deutung, wie sie sich bei den histologischen Methoden zeigen. Diese letzte Aufgabe ist wahrscheinlich die schwierigste, weil man bis jetzt auf dem Schnitte noch nicht das parasitäre Element in seiner Beziehung zur Histologie verfolgen kann, und die gewöhnliche mikroskopische Untersuchung bei natürlichem Licht uns nicht gestattet, mit den stärksten Vergrößerungen genügende Klarheit und Differenzierung so kleiner Elemente zu erhalten.

Bezüglich der letzteren scheint mir bis jetzt jeder endgültige Schluß mit Hinsicht auf ihre besondere parasitäre Natur und Klassifizierung verfrüht. BORREL spricht sie als bakterienähnliche Elemente an, die den Askokokken verwandt sind. Nach PROWAZEK, der, wie der vorher genannte Verfasser ihre parasitäre Natur bestätigt, kommen sie eher den Protozoen nahe. Diese verschiedenen Erklärungen rühren wahrscheinlich von der Tatsache her, daß der erstere Autor besonders Aussehen und Struktur der einzelnen Elemente in Betracht gezogen hat, während der letztere sich besonders an ihre wechselseitigen Beziehungen im Innern der Mutterkörper gehalten hat und ihre besonderen mikrochemischen und biologischen Reaktionen. Ich bin der Ansicht, daß die Frage hinsichtlich der Klassifizierung dieser Elemente in der Schwebe gehalten werden muß, während mir ein Zweifel an ihrer parasitären Natur wie eine Verkennung der augenscheinlichen Tatsachen scheinen will.

Interessant ist auch die Frage ihrer Spezifizität, eine Frage, deren Studium mittels der gewöhnlichen Prüfungsmethoden ich unternommen habe, indem ich vermittels der für obige Nachforschungen angewandten Methoden Präparate geprüft habe, die aus normalen und pathologischen Geweben verschiedenster Provenienz erzielt wurden.

Tafelerklärung.

Tafel XVI.

Fig. 1. Freie Körperchen des Molluscum; Untersuchung frischen Materials vermittels Paraboloid. Obj. 8, Oc. 18, Zeiss.

Fig. 2. Freie Körperchen des Molluscum bei Untersuchung mit Färbungen, Giemsa 1909, vermittels Paraboloid. Obj. 8, Oc. 18, Zeiss.

Fig. 3. Körperchen und mit Körperchen erfüllter Molluscumkörper; bei Paraboloiduntersuchung eines Präparates nach Golgi. Obj. 8. Oc. 18, Zeiss.

Fig. 4. Körperchen und mit Körperchen erfüllter *Corpus molluscum* bei Paraboloiduntersuchung eines Präparats nach der Methode Yamamoto. Obj. 8, Oc. 18, Zeiss.

Tafel XVII.

Fig. 5—9. Erste Serie der Entwicklung des Krankheitsprozesses des Körpers des Molluscum in den Epithelialzellen. Anilinblau.

Fig. 10—12. Fortschreitende Veränderungen und plötzliche Verschiebungen des Kernes der Epithelialzellen.

Fig. 13—21. Zweite Serie der Entwicklung des Krankheitsprozesses des *Corpus molluscum* in den Epithelialzellen. Eisenhämatoxylin.

Theileria parva und *Babesia mutans*
Küstenfieberparasit und Pseudoküstenfieberparasit.
(Vergleichende Studie.)

I. Teil.

Von

Dr. **Richard Gonder,** zurzeit in Transvaal.

(Hierzu Tafel XVIII—XXI.)

Die große Ähnlichkeit, welche der Erreger des Küstenfiebers der Rinder in Afrika, *Theileria parva* (*Piroplasmum parvum*, *Babesia parva)* als Blutparasit mit dem harmlosen Blutparasiten *Babesia mutans* (*Pir. mutans*) hat, war die Veranlassung mancher Diskussion über die Erregerfrage des Küstenfiebers.

Über die Literatur von *Theileria parva* habe ich in meinen Untersuchungen über diesen Parasiten (Arch. f. Protistenk. Bd. 21 Heft 2 1910 und Report of the Gov. Vet. Bacteriologist of Transvaal 1909/10) eingehend berichtet. Dabei wurde auch erwähnt, daß Theiler zuerst auf die biologische Verschiedenheit des Küstenfiebererregers und *Babesia mutans* aufmerksam gemacht hat. Da Theiler niemals durch Übertragung von Blut Küstenfieber erzeugen, dagegen aber den vermeintlichen Erreger leicht mit Blut übertragen konnte, stellte er zwei biologisch verschiedene Parasitenarten auf, eine mit Blut übertragbare und eine nicht übertragbare. Einwände, welche gemacht wurden, waren insofern berechtigt, als Theiler's Experimente an afrikanischen Rindern angestellt wurden, die zum großen Teil mehr oder weniger Träger von *Babesia mutans* sind.

Koch und seine Mitarbeiter erhielten seinerzeit in Afrika bei ihren Versuchen, mit Blut Küstenfieber zu übertragen ein negatives



Resultat. Sie glaubten aber, da sie eine Infektion der nicht richtig erkannten Parasiten, *Babesia mutans*, erzielten, den Küstenfiebererreger übertragen zu haben.

FÜLLEBORN, OLLWIG, M. MAYER u. a. glaubten *Babesia mutans* und *Theileria parva* aus zwei Gründen hauptsächlich für identisch erklären zu müssen. Der eine Grund ist die absolut sterilisierende Immunität, welche das Küstenfieber bei Rindern, die sich von der Krankheit erholen, hinterläßt, der andere ist die Schwierigkeit, die beiden Parasiten morphologisch voneinander zu unterscheiden. Der erste Grund hat insofern seine Berechtigung, als wir bei Protozoenkrankheiten kaum einen Parasiten kennen, welcher eine absolute Immunität hinterläßt. Bei vielen Protozoenkrankheiten kommt es sogar vor, daß der Grad der Infektion mit der Zufuhr der Parasiten in das Blut gesteigert wird. Man denke an Malaria und an die Trypanosomiasen. — Spirochäten und andere Protozoenkrankheiten (Piroplasmosen) hinterlassen eine gewisse relative Immunität. Ob beim Küstenfieber die sterilisierende Immunität für immer in dem Rinde bleibt, ist allerdings auch eine diskutierbare Frage. Es wäre doch denkbar, daß ein immunes Rind seine Immunität nach einer Reihe von Jahren verliert und sich frisch infiziert. Dies werden erst längere Beobachtungen lehren. GLÜCK beobachtete in Bosnien in einem Distrikt mit endemischer Lues Fälle von Lues (also auch bei einer Protozoenkrankheit), bei welcher die Immunität nach vielen Jahren schwand und neue Primärinfektion auftrat.

Da eine Unterscheidung beider Parasiten für die Diagnostizierung von Küstenfieber auch von praktischer Bedeutung ist, wird es von Interesse sein, über einige vergleichende Untersuchungen, welche ich während meiner Küstenfieberstudien am veterinär-bakteriologischen Laboratorium Transvaals anstellte, zu berichten.

Um mit der biologischen Verschiedenheit beider Parasiten zu beginnen, so wurde bereits erwähnt, daß *Theileria parva* nicht durch Blut zu übertragen ist. — Einem mit Küstenfieber infizierten, englischen Rinde (frisch von England importiert) wurden ca. 100 ccm Blut auf der Höhe der Krankheit entnommen und einem anderen englischen Rind subkutan injiziert. Das Blut des infizierten Rindes zeigte eine starke Infektion von *Theileria parva.* Ungefähr 60 Proz. aller Blutkörperchen war infiziert. Nach längerer Durchmusterung einiger Präparate wurden auch im Blute einige sog. KOCH's Kugeln der gamogenen Generation (s. Artikel in Arch. f. Protistenk. Bd. 21 Heft 2) nachgewiesen.

Das zweite infizierte englische Rind zeigte in keiner Weise

irgendwelche Reaktion und in der Folgezeit auch niemals Parasiten. Die Blutuntersuchungen wurden fast täglich während 3 Monate ausgeführt. Theiler wiederholte das gleiche Experiment an zwei anderen englischen Rindern mit demselben Resultat. Ebenso hatte Stockmann in England mit ebensolchen Elementen keinen anderen Erfolg (uned.).

Als Kontrolle für diese auch an anderer Stelle bereits erwähnten Versuche wurde ein Experiment mit *Babesia mutans* angestellt. Einem mit *Bab. mut.* infizierten Rinde wurde eine kleine Menge, ca. 10 ccm Blut entnommen und einem anderen parasitenfreien Rinde subkutan injiziert. Das zweite Rind hatte am 30. Tage eine schwache Fieberreaktion und zeigte *Babesia mutans* im Blute, welche in der folgenden Zeit nicht mehr verschwanden. Das gleiche konnte ich beobachten bei experimenteller Übertragung von Küstenfieber mit Organen, welche Dr. Theiler und Dr. K. F. Meyer am hiesigen Institute ausführten. Da mir nach dem Weggang von Dr. Meyer die parasitologische Kontrolle der in diesen Experimenten stehenden Rindern oblag, hatte ich oft Gelegenheit, bei Blut- und Organübertragungsversuchen Babesieninfektionen zu verfolgen. Ebenso konnte ich mehrmals bei englischen Rindern, welche Dr. Theiler künstlich durch Blut mit der von ihm als Anaplasmosis bezeichneten Krankheit infiziert wurden, Babesienneuinfektionen studieren.

Mit diesen speziell an englischen Rindern ausgeführten Experimenten war also einwandsfrei bewiesen, daß *Theileria parva* mit *Babesia mutans* nicht identisch sein kann. Den Beweis zu erbringen, hatte nur seine Schwierigkeit darin, eine Doppelinfektion beider Parasiten auszuschließen.

Alle Überträger von *Babesia mutans* kennen wir leider noch nicht mit Sicherheit. Es war aber möglich, wie dies auch die Experimente beweisen, gut gesondertes Zeckenmaterial zu züchten, so daß bei einer Blutübertragung von einem durch eine braune Zecke, *Rhipicephalus appendiculatus*, mit *Theileria parva* infizierten Rind auf ein gesundes, einwandsfreies Rind eine *Babesia mutans*-Infektion ausgeschlosssn werden konnte.

Was die Morphologie betrifft, so ist wie gesagt, eine Differentialdiagnose beider Parasiten aus dem Blute äußerst schwer zu stellen. Nur aus der Zahl der Parasiten läßt sich häufig ein Schluß auf Küstenfieber ziehen. Der Beweis einer Infektion mit *Babesia mutans* müßte dann aber experimentell erbracht werden. Für den in der Praxis stehenden Tierarzt kommt vor allen Dingen in verdächtigen Fällen die Organuntersuchung in Betracht. Denn es ist nicht aus-

geschlossen, daß auch verhältnismäßig starke *Babesia mutans*-Infektionen vorkommen, welche leicht zu Irrtümern führen. Bei einigen Fällen hätte ich aus der großen Anzahl von *Babesia mutans* im Blute die Diagnose Küstenfieber gestellt, wenn mich nicht die Untersuchung von Drüsen- und Milzpunktionssaft eines anderen belehrt hätte. — Außerdem hat man in einer Gegend, in welcher Küstenfieber nicht endemisch ist, wie der südafrikanische Kontinent, mit akut verlaufendem Küstenfieber zu rechnen. Bei solchen Fällen kommt es unter Umständen gar nicht zur Bildung der Blutformen oder nur zu einer sehr schwachen Infektion, die dem Untersucher vielleicht ganz und gar entgeht. Die vor einigen Jahren von LOUNSBURY und ROBERTSON ausgeführten Experimente beweisen dies zur Genüge. Genannte Autoren glaubten sogar mit einem invisiblen Virus rechnen zu müssen, da sie keine Parasiten im Blute nachweisen konnten. Sie konnten aber Zecken an diesen Rindern infizieren, welche dann später wieder typisches Küstenfieber in seiner vollen Entwicklung verursachten.

An der Hand eines großen Materials, das mir für meine parasitologischen Studien am hiesigen Institut zur Verfügung stand, konnte ich über die Entwicklungsgeschichte von *Theileria parva* einen ausführlichen Beitrag bringen. Es war mir möglich, nachzuweisen, daß *Theileria parva* einen von *Babesia mutans* verschiedenen Entwicklungsgang durchmacht, der für den Praktiker zur Diagnostizierung ungemein wichtig ist. *Theileria parva* macht in den Organen besonders in den Lymph- und Hämolymphdrüsen eine agamogene Entwicklung durch, die eine toxische Wirkung erkennen läßt. Aus den agamogenen Formen resultieren gamogene Entwicklungsstadien, die durch Schizogonie die Gametocyten liefern. Letztere befallen die roten Blutkörperchen. Trotz der ungeheuer großen Zahl, in welcher die Parasiten im Blutkreislauf auftreten, werden kaum erhebliche pathologische Veränderungen der Erythrocyten beobachtet. Nur gegen das Ende der Krankheit tritt eine schwache Anisocytosis auf, und die Zahl der Blutkörperchen nimmt etwas ab.

Das Rinderblut, welches sowieso im Vergleich zu dem Blute anderer Tiere sehr leicht auf schädigende Einflüsse, seien sie toxischer Art oder Kontaktwirkung, reagiert und pathologisch veränderte Erythrocyten zeigt, scheint dem Küstenfieberparasiten gegenüber refraktär zu sein.

Meines Erachtens haben die Blutformen von *Theileria parva* keinen schädigenden Einfluß mehr, weil die Blutkörperchen bereits in den Organen und im Knochenmark infiziert werden, und die Para-

siten im Blute keine weitere Fortpflanzung haben. Sie erscheinen nur im Blutkreislauf, um in den Magen der Zecken zu gelangen, wo sie ihrer weiteren Bestimmung nachkommen.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei *Babesia mutans*. Im Drüsen- und im Milzpunktionssaft konnte ich durchaus keine Formen finden, welche den Entwicklungsformen von *Theileria parva* in den Organen entsprochen hätten. Drüsen- und Milzpunktionen wurden an den mit *Babesia mutans* infizierten Rindern ebenso systematisch ausgeführt als an den küstenfieberkranken Rindern.

Bei weiteren Untersuchungen stellte es sich heraus, daß *Babesia mutans* ein typischer Blutparasit ist, der auch seine Entwicklung fast nur im Blute hat. Auch die pathologischen Veränderungen der Erythrocyten der mit *Babesia mutans* infizierten Rinder sprechen hierfür. Besonders bei frischen Infektionen macht sich eine Anisocytosis und Poikilocytosis bemerkbar. Unter Umständen tritt auch eine schwache Basophilie auf.

Die ersten Parasiten erscheinen im Blute nach einer künstlichen Infektion ungefähr am 30. Tage, manchmal einige Tage früher, manchmal einige Tage später. Sie zeigen im frischen Blutpräparat Bewegungen, welche im Vergleich zu *Theileria parva* lebhaft zu nennen sind. Der Parasit ist so außerordentlich klein, daß man an ihm ebensowenig wie an *Theileria parva* lebend morphologische Einzelheiten zu erkennen vermag. Nur die Kerne treten durch ihre stärkere Lichtbrechung hervor.

Die jüngsten Parasiten sind sehr kleine, Bruchteile eines μ messende Formen meist von Kommagestalt (Fig. 1). Sie nehmen dann bald Stäbchenform oder rundlich-ovale Gestalt an (Fig. 2). Ihr Plasma färbt sich nach GIEMSA tief dunkelblau. Auch die Kerne nehmen den roten Farbstoff sehr stark in sich auf. Der Kern anfangs rund und oval nimmt mit dem Wachstum der Parasiten an Größe zu und gibt seine regelmäßige Form auf. Sehr häufig bildet sich in dem Parasiten unterhalb des Kernes eine Vakuole, die durch Flüssigkeitsaufnahme immer größer wird und dem Parasiten eine ringförmige Gestalt verleiht (Fig. 6 und 8). Auf allen diesen Stadien, also sowohl als Komma-, als auch als Birn-, Stäbchen- und Ringform, kann sich *Babesia mutans* vermehren (Fig. 3 und 5). Gerade zu Beginn der Infektion trifft man gar nicht selten in Teilung begriffene Parasiten. Ich glaube, daß diese Art der Vermehrung, einfache Zweiteilung, die gewöhnliche Art der Fortpflanzung dieses Parasiten ist.

Einige Tage nach dem ersten Auftreten dieser jüngsten Formen

entwickeln sich größere Parasiten, welche man gewöhlich bei den afrikanischen Rindern im Blute vereinzelt findet. Sie entstehen zum Teil aus den Birn- und Ringformen, zum Teil aus den Stäbchenformen. Nach Analogie mit anderen Blutparasiten, speziell Babesien und Trypanosomen, könnte man die Stadien als Micro- und Macrogametocyten bezeichnen. Die stäbchenförmigen Individuen wachsen zu größeren, chromatinreichen Parasiten heran (Fig. 5 und 7—10). Ihre Kerne von ovaler, länglicher Gestalt, zeichnen sich durch besondere Größe aus. Der Kern nimmt häufig mehr als ein Drittel und nicht selten die Hälfte des ganzen Parasiten ein. Er ist reich an Chromatin und zeigt bei starker Vergrößerung deutlich alveolären Bau. Mehrere sich dunkler färbende Chromatinkörner sind den Wabenwänden eingelagert. Auch das Protoplasma ist deutlich alveolär strukturiert.

Von diesen als Microgametocyten zu bezeichnenden Formen sind andere zu unterscheiden, welche eine breite und plumpere Gestalt besitzen. Sie sind reicher an Plasma, dagegen ärmer an Chromatin, würden somit die Macrogametocyten darstellen (Fig. 11—14). Besonders in der Nähe des Kernes, meistens unterhalb desselben liegen mehrere größere Alveolen (Fig. 12—14). Häufig umgibt der Kern chromidialartig eine dieser Alveolen (Fig. 13). Der Kern ist sehr locker strukturiert und zeigt in seinen Wabenwänden nur einzelne sich dunkler färbende Chromatinkörner. Macro- und Microgametocyten erreichen eine durchschnittliche Größe von ca. 3 μ.

Was nun die eigentümlichen Vierergruppen (Fig. 13, 15—24 betrifft, so sind sie nur mit starken Vergrößerungen von den Vierergruppen des Küstenfiebererregers (Fig. 39 und 40) zu unterscheiden. In meinen Untersuchungen über die Entwicklung von *Theileria parva* führte ich bereits aus, daß die Bildung der sogenannten Kreuzformen von *Theileria parva* in der Regel schon in den Organen vor sich geht. Junge aus der Schizogonie der Gamonten hervorgehende Gametocyten ordnen sich gleichsam als Agglomerationsformen in Kreuzform an. Ich konnte bei *Theileria parva* niemals Formen sehen, welche auf eine Teilung eines einzigen Kernes in vier Teilprodukte schließen ließen.

Bei *Babesia mutans* liegen die Verhältnisse anders. Die Kreuzformen erscheinen nicht mit den ersten jungen Parasiten, sondern einige Tage später. Da ich an den Kernen der von mir als Macrogametocyten bezeichneten Entwickelungsstadien eine Art Reduktion in Form eines Chromidialnetzes (Fig. 15—16), das oft den ganzen Zelleib (Fig. 17) ausfüllt, nachweisen konnte, glaube ich, daß diese

Kreuzformen aus den Macrogametocyten durch Parthenogenese entstehen. Der Kern des Macrogametocyten wird lockerer. Ein mit Giemsa sich dunkelrot färbendes Caryosom tritt in Form eines runden Kornes auf und spaltet sich in zwei Teilprodukte, die sich polständig anordnen. Das Chromatin sammelt sich zwischen beiden an und bildet gleichsam eine Äquatorialplatte (Fig. 18). Wir haben es also mit einer Mitose zu tun. Nachdem auf diese Weise sich zwei Kernteilstücke gebildet haben, kommt es zu einer „x-“förmigen Figur (Fig. 19–20), indem die beiden Tochterkerne sich wieder, jetzt aber amitotisch, in zwei weitere Tochterkerne spalten. Fig. 15—24 werden diese verschiedenen, aufeinander folgenden Teilungsstadien besser wiedergeben.

Die aus dieser Kernteilung hervorgehenden Parasiten entwickeln sich dann ähnlich weiter, wie die zuvor erwähnten jüngsten Formen.

Der Einfluss, welchen *Babesia mutans* auf das Blut hat, wurde bereits erwähnt. Es kommt gewöhnlich bei einer Neuinfektion zu pathologischen Formen, wie Stechapfelformen und stark vergrößerten Erythrocyten, manchmal auch zur basophilen Körnelung derselben. Auch das Rind kann mit einer leichten Temperatursteigerung reagieren. Es ist natürlich schwer, bei afrikanischen Rindern mit Bestimmtheit diese Veränderungen an den Blutkörperchen auf den Einfluß von *Babesia mutans* zurückzuführen. Denn schon ganz schwache *Bab. bigeminum*-Infektionen haben sehr leicht derartige pathologische Veränderungen zur Folge. Auch die unter dem Namen „Anaplasmosis“ bezeichnete Krankheit der Rinder, welche im Blute deutlich eine Anämie zum Ausdruck bringt, kann zu Irrtümern führen.

Im allgemeinen sind die Küstenfieberparasiten im Blute, wenn sie ausgewachsen sind, also ausgebildete Micro- und Macrogametocyten darstellen, etwas kleiner. Während die ausgewachsenen Gametocyten von *Babesia mutans* eine durchschnittliche Größe von zirka 2,8—3 μ erreichen, wird *Theileria parva* im Blute ungefähr 2,5—2,7 μ groß. Die ersten im Blute auftretenden Formen von *Theileria parva* sind nicht von den jungen Individuen von *Babesia mutans* zu unterscheiden in (Fig. 25—27). Ihr Kern färbt sich ebenso itensiv dunkelrot nach Giemsa, als bei *Bab. mut.* Auch die weiter fortgeschrittenen Entwickelungsstadien, die Stäbchen- und Ringformen, lassen keine wesentlichen, morphologischen Unterschiede erkennen. Nur trifft man bei diesen Stäbchen- oder Bazillenformen mehr unregelmäßige, eckige und geknickte Stadien, deren Kerne sich häufig noch über den Plasmaleib hinauserstrecken. (Fig. 28—32).

Ebendasselbe gilt auch von den größeren Birn- und Stäbchenformen. Es scheint, als ob das Chromatin sowohl, wie auch das Plasma kompakter strukturiert sei. Die weiblichen Formen (Fig. 34—38) besitzen nicht so große Alveolen wie diejenigen von *Bab. mut.* Gewöhnlich findet man nur eine größere Vakuole in der Mitte des Parasiten (Fig. 36 u. 37). Besonders auf einem jüngeren Stadium ist eine Unterscheidung kaum möglich, da die Vakuole lange bestehen bleibt, auch dann noch, wenn der Macrogametocyt die Birnform angenommen hat. Die Microgametocyten zu Anfang komma- und bazillenförmig wachsen häufig auch zu ganz geraden Stäbchen heran, welche kaum von den Microgametocyten von *Bab. mut.* zu unterscheiden sind (Fig. 30, 31 u. 33).

Die großen birnförmigen Macrogametocyten von *Theileria parva* runden sich im Magen der Zecke ab und verschmelzen dann mit den stäbchenförmigen Microgameten. Über die Kreuzformen (Fig. 39—41) wurde bereits oben das nähere erwähnt.

Aus dem geschilderten und aus den beigegebenen Abbildungen und Mikrophotographien geht deutlich hervor, daß eine Differentialdiagnose nur bei einem genauen und eingehenden Studium im Laboratorium möglich ist. Handelt es sich bei einer Rindererkrankung um Küstenfieber im Anfangsstadium oder um recht schwer akut verlaufende Fälle, bei welchen letzteren es gar nicht recht zur Bildung der Blutformen von *Theileria parva* kommen mag, so wird immer nur eine mikroskopische Untersuchung von Drüsen- oder Milzpunktionssaft zweifellos die richtigere Diagnose geben. Bei mehr normal verlaufendem Küstenfieber, bei welchem es zur Ausbildung der Blutformen von *Theileria parva* kommt, wird allerdings auch die große Anzahl der Parasiten in den meisten Fällen (60—80% der Blutkörperchen infiziert) eine richtige Diagnose ergeben, da starke *Babesia mutans*-Infektionen nicht allzu häufig auftreten.

Literaturverzeichnis.

1) FÜLLEBORN: S. Nr. 8.
2) GONDER, R.: Über die Entwicklung von Piroplasma parvum in den Organen der küstenfieberkranken Rinder in Afrika. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1910 Nr. 27.
3) —: Die Entwicklung von Theileria parva, dem Erreger des Küstenfiebers der Rinder in Afrika. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 1910.
4) KOCH, R.: Report on Rhodesia Redwater or African Coast Fever. Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope 1903.
5) LOUNSBURY, P.: Transmission of African Coast Fever. Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope 1904.
6) MAYER, M.: Über das ostafrikanische Küstenfieber. Münch. med. Wochenschr. 1909 p. 1755.
7) MEYER, K. F.: Zur Übertragung von Küstenfieber usw. Zeitschr. f. Infektionskrankh. u. Hyg. d. Haustiere 1909.
8) OLLWIG: Diskussionsbemerkung. Originalbericht über die 3. Tagung der freien Vereinigung für Microbiologie. Centralbl. f. Bakteriol. usw., Abt. Ref. 1909.
9) ROBERTSON: S. Nr. 5.
10) THEILER, A.: Report of the Gov. Vet. Bacteriologist of Transvaal 1903—1906.
11) —: Report of the Gov. Vet. Bacteriologist Transvaal 1907—1910.
12) —: Transmission des spirelles et des piroplasmes etc. Bull. de la Société de Pathologie exotique No. 6 1909.

Tafelerklärung.

Alle Figuren der Taf. XVIII wurden mit Hilfe des ABBE'schen Zeichenapparates nach GIEMSA-Präparaten entworfen. Benutzt wurde ein ZEISS'sches Mikroskop, Apochrom. Hom. Ölimmers. 2 mm, Comp. Ok. 18. Taf. XIX u. XX geben Mikrophotographien wieder, welche mit dem ZEISS'schen Mikrophotoapparat hergestellt wurden. ZEISS' Mikroskop, Apochrom. Hom. Imm. 2 mm, Projektionsok. 4 mm. Kamerabalglänge 70 cm.

Tafel XVIII.

Fig. 1—24. *Babesia mutans.*
Fig. 1—3. Junge, birnförmige Parasiten.
Fig. 4. Junge Birnformen in Teilung.
Fig. 5 u. 6. Stäbchen- und Ringformen.
Fig. 5. Ringform in Teilung.
Fig. 7—10. Verschiedene Stadien der Microgametocyten.
Fig. 11—14. Verschiedene Formen der Macrogametocyten.
Fig. 15—17. Parthenogenese, Chromidialnetzbildung.
Fig. 18. Kernteilung, Spindelform.
Fig. 19 u. 20. x-förmige Teilungsfiguren.
Fig. 21. Teilung der Tochterkerne.



Tafel XIX.

Fig. 22 u. 23. Teilung der Tochterkerne.
Fig. 24. Ausgebildete Vierergruppe.
Fig. 25—42. *Theileria parva.*
Fig. 25 u. 26. Junge birn- und ringförmige Parasiten.
Fig. 27—31. Stäbchenförmige Parasiten.
Fig. 32. Desgl., außerdem junge Macrogametocyten.
Fig. 43. Micro- und Macrogametocyten.
Fig. 34—38. Verschiedene Entwicklungsformen von Macrogametocyten.
Fig. 39 u. 40. Vierergruppen.
Fig. 41 u. 42. Stark infizierte Blutkörperchen.

Tafel XX.

Fig. 43—46. *Babesia mutans.*
Fig. 43. Junge rundliche Parasiten und Microgametocyten.
Fig. 44. Ringförmige Parasiten und ein Macrogametocyt.
Fig. 45. X-förmige Teilungsfigur (etwas rechts von der Mitte), Reduktionsform (rechts unten).
Fig. 46. Vierergruppe und andere Formen.

Tafel XXI.

Fig. 47—50. *Theileria parva.*
Fig. 47. Junge stäbchen- und ringförmige Parasiten.
Fig. 48. Junge Parasiten und ausgebildete Microgametocyten (oben rechts und links).
Fig. 49. Vierergruppe und andere Formen.
Fig. 50. Sehr stark infiziertes Blut.

(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
Leiter: Medizinalrat Prof. Dr. Nocht.)

Über ein Halteridium und Leucocytozoon des Waldkauzes und deren Weiterentwicklung in Stechmücken.

Von
Dr. **Martin Mayer**.

(Hierzu Tafel XXII u. XXIII.)

Inhaltsübersicht.

I. Einleitung.

Fritz Schaudinn's Arbeit über „Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete“ (1), die ganz neue Gesichtspunkte für die Protozoenforschung brachte, konnte bisher noch nicht ein-

wandfrei bestätigt werden, und SCHAUDINN selbst war es ja leider nicht vergönnt, eine ausführliche Publikation zum Beweise seiner Befunde zu veröffentlichen. Unter den Arbeiten, die durch SCHAUDINN's Werk angeregt wurden, nahmen bald solche überhand, die seine Befunde nicht nur nicht bestätigen konnten, sondern auch ihm selbst solche Irrtümer und Verwechslungen beweisen zu können glaubten, daß sie seine Angaben für falsch hielten, verursacht durch Mischinfektion seiner Versuchstiere, die ihn getäuscht und zu falschen Schlußfolgerungen geführt hätten.

Selbst Autoren, die anfangs ganz sicher scheinende Beweise für einen Teil seiner Befunde brachten, wie ED. u. ET. SERGENT (2 u. 3), wurden skeptisch ihren eigenen Resultaten gegenüber.

Jedes stechende Insekt wurde zerquetscht und jeder Flagellatenbefund in seinem Darmtractus wurde zum Gegenbeweis gegen eine ähnliche Entwicklung von Warmblüterparasiten gestempelt, und in analoger Weise sollte jede gelungene Flagellatenzüchtung aus dem Vogel SCHAUDINN's Werk in Frage stellen.

Ich freue mich, im folgenden einen experimentellen Beitrag zur Frage der Entwicklung jener von SCHAUDINN studierten Parasiten geben zu können, der, wenn er auch noch lückenhaft ist, so doch einige Hauptpunkte der SCHAUDINN'schen Arbeit einwandfrei beweist. Ich sage „einwandfrei", denn bei der Leichtigkeit der Beschaffung des Materials und der Versuchsanordnung wird jeder die Resultate nachprüfen, bestätigen und, wie ich wünsche, besonders auch bezüglich der mir als Nichtzoologen ferner liegenden morphologischen Details, weiter ausbauen können.

Über einige Resultate der Untersuchung habe ich bereits in einer vorläufigen Mitteilung „Über die Entwicklung von Halteridium" im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. kurz berichtet (4).

Untersuchungsmaterial.

Die zu den Untersuchungen benutzten Eulen wurden teils aus Wien, teils aus Lübeck von Händlern bezogen; es waren ausgewachsene Exemplare, die als gemeiner Waldkauz, *Syrnium aluco*, bestimmt werden konnten. Auf die Infektion der einzelnen Exemplare wird an entsprechender Stelle näher eingegangen.

Zu den Infektionsversuchen wurden benutzt:

1. Wildgefangene Exemplare von *Culex annulatus* und *pipiens*, letztere in großer Zahl, die in der Umgebung von Hamburg und Cuxhaven in Kellerräumen und Ställen gefangen waren.



2. Wenige gezüchtete Exemplare von *Culex pipiens*.

3. Gezüchtete Exemplare von *Stegomyia calopus* (Stamm Brasilien, seit 1904 in Europa fortgezüchtet).

II. Morphologische Untersuchungen an den Halteridien der Eulen.

Von den Eulen, von denen 5 aus Wien, 3 aus Lübeck stammten, enthielten 6 Halteridien, und zwar 4 aus Wien und 2 aus Lübeck. Einige enthielten die Parasiten in äußerst spärlicher Zahl, andere dagegen zeigten monatelang eine schwere Infektion mit den verschiedensten Entwicklungsstadien.

Im ungefärbten Präparat zeigten die Halteridien keine Besonderheiten, auch nicht bei der oft beschriebenen alsbald eintretenden Geißelung der Microgametocyten. Dagegen zeigten sich in den nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen 2 Charakteristika, die sie von den bisher beschriebenen Eulenhalteridien unterscheiden lassen.

I. Doppelkernigkeit: Alle jungen, noch pigmentfreien Formen zeigten eine Doppelkernigkeit. Die jüngsten Formen erscheinen rundlich; der Hauptkern zeigt eine runde bis langgestreckte Form und färbt sich leuchtend rot, ihm gegenüber liegt ein zweites Chromatinkorn in Form eines stets kreisrunden zweiten Kernes, der sich, ähnlich wie die Blepharoplasten, etwas dunkler färbt, oft mit hellerem Zentrum (Fig. 1 u. 2). Bei etwas älteren, bereits sich langstreckenden Individuen liegt der Hauptkern ungefähr in der Mitte der blauen Protoplasmamasse, während der zweite Kern an einem der Enden liegt (Fig. 3 u. 4).

In älteren pigmenthaltigen Parasiten läßt sich dieser zweite Kern dann meist nicht mehr nachweisen; Beweise für eine Ausstoßung oder Einwanderung in den Hauptkern wurden nicht gefunden.

Eine ähnliche Doppelkernigkeit von Halteridien wurde von WOODCOCK (5) bei einem Halteridium des Buchfinken beschrieben, und zwar fand er sie bei weiblichen, indifferenten und jungen Formen. WOODCOCK hält seinen Befund für „das erste definitive Beweisstück, um wenigstens einen von SCHAUDINN's berühmten Schlüssen zu bestätigen“. Nach BERLINER (6) zeigt *Haemoproteus noctuae* noch oft einen kleinen, in der Nähe des Kernes liegenden Blepharoplast.

II. Alkaliphile Granula. In den älteren und erwachsenen Individuen, und zwar in allen Formen, erscheint das Protoplasma

bei schwacher Färbung von wabiger Struktur, indem ziemlich regelmäßige helle Lücken im blauen Plasmaton auftreten. Bei etwas stärkerer Färbung zeigen sich in einem Teil der Individuen in diesen Lücken leuchtend rote Pünktchen in typischer Chromatinfärbung. Bei ganz intensiv gefärbten Präparaten nehmen die Granula dann einen dunklen violetten Ton an — im Gegensatz zum Kern — und erscheinen größer wie vorher und kreisrund. Erst durch Zusatz von Alkali zur Farblösung (1 Tropfen 1 proz. Sodalösung zu 10 ccm Farblösung) gelingt es, die Granula konstant zur Darstellung zu bringen, und zwar erscheinen sie dann, je nach dem Färbegrad, rotviolett bis schwarzviolett, eventuell sogar fast schwarz. Diese Avidität für Alkali hat für diese Granula Herr Giemsa nachgewiesen, der mich bei den Versuchen ihrer konstanten Darstellung in liebenswürdiger Weise unterstützte. Die Granula liegen stets im Protoplasma zu beiden Seiten des Kernes und zwar bei erwachsenen Formen in ungefährer Zahl von 20—30 in jeder Hälfte; sie erscheinen auch bei der Alkalifärbung kreisrund; daneben ist goldgelbes Pigment stets vorhanden, oft überlagert von den Gebilden. Die Pigmentkörner sind in der Größe und Form oft gleich und es ist deshalb nicht auszuschließen, daß die Granula mit dem Pigment in Beziehung stehen. Daß es sich nicht um Kernsubstanz handelt, wie es auf den ersten Blick erscheinen könnte, ist zweifellos. Cardamatis (7) hat bei einem Halteridium der Tauben offenbar ähnliche Gebilde schon gesehen.

Beim Halteridium des Reisvogels habe ich vergebens danach gesucht, und auch bei — allerdings über 2 Jahre alten — Halteridienausstrichen von *Athene noctua* gelang mir ihre Darstellung nicht. In Fig. 4—9 sind die verschiedenen Färbestadien und die alkaliphilen Granula wiedergegeben.

Es wurde im Eulenblut vergebens nach freien Trypanosomenformen der Halteridien, wie sie Schaudinn beschrieb, gefahndet, und auch die Untersuchung der inneren Organe bei einer reichlich infizierten Eule, die zu dem Zweck getötet wurde, ergab weder Schizogoniebefund noch freie Formen. Lediglich in einem feuchtfixierten Leberausstrich wurde ein merkwürdiges Trypanosoma gefunden, das anders aussah als die sonst beobachteten und dem Cyclus des *Leucocytozoon* zugeschriebenen (Fig. 10); ein typisches Trypanosoma war nur einmal bei einer anderen, vorher mit *Trypanosoma paddae* infizierten Eule im Blute gesehen worden. Aus dem Befund läßt sich nicht viel schließen, ebensowenig aus dem Befund eines kleinen freien Parasiten in einem gefärbten Ausstrich, der ebensogut von einem zerstörten Blutkörper abgeglitten sein konnte (Fig. 11). Auf Try-

panosomen mußte besonders deshalb genau untersucht werden, weil gerade bei *Syrnium aluco* früher von Laveran (8) Trypanosomen beobachtet und genau beschrieben worden sind. Auf den Befund großer Trypanosomen, die nach Schaudinn zum Cyclus des *Leucocytozoon* gehören, komme ich später zurück.

Es konnte also in der Eule selbst außer der konstanten Zweikernigkeit der jungen Formen nichts gefunden werden, was für einen Zusammenhang mit Flagellatenformen sprach.

III. Züchtungsversuche mit den Halteridien.

Bereits 1905 war es Fülleborn in unserem Institut gelungen, aus mit Halteridien und Leucocytozoen infizierten Exemplaren von *Athene noctua* Blutkulturen von Flagellaten anzulegen, was eine Umwandlung der Hämosporidien zu diesen Flagellaten wahrscheinlich machte. 1905 erschien die ausführliche Arbeit von Novy u. McNeal (16) über Vogeltrypanosomen, nach der es bei einer Reihe von Vögeln, die bei mikroskopischer Untersuchung keine Trypanosomen im Blute zeigten, gelang, kulturell Flagellaten zu erhalten. Ein Teil der Vögel war mit Halteridien, Proteosomen und Leucocytozoen infiziert.[1]) Die Autoren nahmen an, daß bei ihren und ebenso Schaudinn's Versuchen eine Mischinfektion mit Trypanosomen vorgelegen hatte, ähnliches hielten sie auch für Rogers' Züchtungen der *Leishmania* für wahrscheinlich.

Rosenbusch (9) hat 1909 Kulturen aus dem Blut des Steinkauzes morphologisch untersucht und hält es für wahrscheinlich, daß sie zu den Halteridien und Leucocytozoen gehören. Den endgültigen Beweis der Zusammengehörigkeit der Formen konnte er nicht bringen und glaubt, daß er nur durch direkte Beobachtung der Verwandlung der Parasiten in die Flagellaten zu liefern sei.

In meinen Versuchen gelang es, von den 6 mit Halteridien infizierten Eulen bei 4 Flagellatenkulturen zu erhalten; von diesen Eulen wurden nur bei 3 Leucocytozoen beobachtet, und zwar zur Zeit der Anlegung der Kulturen stets nur spärliche Ruheformen; bei einer hauptsächlich zu den Infektionen und Kulturen benutzten monatelang auch solche nicht. Die 2 Eulen, bei denen die Kultur nicht gelang (es war nur einmal versucht worden), enthielten äußerst

[1]) Leider ist die für das „nächste Heft" 1905 angekündigte Arbeit über diese Hämatozoen nicht erschienen.

spärliche Halteridien, und zwar nur reife Geschlechtsformen. Bei den 2 Eulen, bei denen mikroskopisch keine Halteridien oder Leucocytozoen gefunden wurden, blieben die Kulturen gleichfalls steril.

Als Kulturmedium wurde Kaninchenblutagar nach Novy, und zwar 1 Teil Blut auf 2 Teile Agar, benutzt. Zu den Erstkulturen wurden gewöhnlich 3 Tropfen Eulenblut aus der Flügelvene entnommen. Die Kulturen wurden bei Zimmertemperatur gehalten. Entgegen den Befunden von Rosenbusch erhielt ich stets nur gleichartige Flagellaten, was nicht zu verwundern ist, als die Leucocytozoen stets nur äußerst spärlich waren.

Durch folgende Beobachtungen glaube ich den endgültigen Beweis erbracht zu haben, daß die Flagellaten tatsächlich sich aus den Halteridien entwickelt haben.

Jedesmal beim Anlegen der Kulturen wurden mikroskopisch genau auf Trypanosomen untersucht:

1. 6 frische Präparate, zwischen Deckglas (21/26 mm) und Objektträger. Die Präparate wurden außer mit Immersion mit Zeiss Objektiv AA und Komp.-Okular 12 durchgemustert, eine Methode, bei der, wie man sich leicht überzeugen kann, Trypanosomen sehr rasch entdeckt werden.

2. 2—3 gefärbte Ausstriche.

Nachdem es sich gezeigt hatte, daß bei 2 stark infizierten Eulen die Kultur schon mit einer einzigen Öse Blut gelang, wurde folgende Versuchsanordnung getroffen:

Es wurden mit einer kleinen Öse 12 frische Präparate nach der Methode des hängenden Tropfens angelegt (natürlich nach vorhergehender Sterilisierung des Materials); diese absichtlich winzig klein angefertigten hängenden Tropfen wurden sehr sorgfältig auf Trypanosomen durchgemustert und deren Abwesenheit in den Präparaten kann mit Sicherheit behauptet werden. Dann wurden die Tropfen von je 4 Präparaten in einer Capillare aufgesaugt und auf Blutagar verimpft. In allen 3 auf diese Weise hergestellten Kulturröhrchen kam es zur Entwicklung der Flagellaten.

Ferner wurde, um einen weiteren Beweis zu liefern, die direkte Züchtung unter dem Deckglase, wie sie França (10) zuerst für Froschtrypanosomen angegeben hat, versucht und gelang nach einigen Mißerfolgen unter Anwendung einer Modifikation:

Es wurde nämlich je einer kleinen Öse Blut eine gleiche Menge Kondenswasser von Novy-Agar zugesetzt.

Ein Teil der Präparate zeigte sich bald als durch Bakterien verunreinigt. 6 Präparate zwischen Deckglas und gewöhnlichem

Objektträger zeigten kein Wachstum, während bei 2 von 6 nach der Methode des hängenden Tropfens angefertigten Präparaten am 5. bzw. 6. Tage Flagellaten auftraten. Bei einem der Präparate waren dabei sogar zahlreiche Rosetten entstanden. Alle Präparate waren von der Blutentnahme an täglich aufs sorgfältigste auf Trypanosomen untersucht worden, stets mit negativem Erfolg, bis zum Erscheinen der oben genannten Flagellaten. Bei einer späteren Wiederholung mißlang der Versuch, doch kam es in allen Präparaten schon nach 24 Stunden zu reichlichem Bakterienwachstum, was bei der komplizierten Versuchsanordnung nicht leicht zu vermeiden ist.

Es gelang also mit so geringen Blutmengen, daß man bei sorgfältiger Durchmusterung sicher die Anwesenheit von Trypanosomen feststellen könnte, trotz negativen Trypanosomenbefundes sowohl direkt im Kulturröhrchen als auch im hängenden Tropfen Flagellatenkulturen zu erhalten, die demnach — da auch Leucocytozoen in diesen Fällen fehlten — zweifellos den Halteridien zuzuschreiben sind.

Es wurden auch von frisch angelegten Kulturen täglich Proben entnommen und sowohl Feucht- als Trockenpräparate angefertigt, um etwa eine Übergangsserie der Ruheformen in die Flagellaten zu erhalten. Wenn dies auch nicht gelang, so wurden doch zweimal zweifellose Übergangsstadien gesehen. Es sei hier bemerkt, daß die Flagellaten stets frühestens am Ende des 4. Tages auftraten.

Es wurde einmal im frischen Präparat am 5. Tage folgende Form gesehen: Ein kugelförmiger Parasit enthielt eine Vacuole, die sich bewegte. Nach einer Stunde hatte sich ein kleines geißelförmiges Gebilde losgelöst, das hin- und herwippende Bewegungen machte, dabei hatte sich der Körper nach unten ausgebuchtet (Fig. 12).

Ein zweites Mal wurden in einem nach GIEMSA angefertigten Trockenausstriche am 4. Tage die in Fig. 13 abgebildeten Formen gesehen. Bei diesen Formen, von denen die eine eine lange Geißel zeigt, färbten sich die oben beschriebenen zahlreichen roten Körner der Halteridien mit, was als Beweis für den Zusammenhang der Flagellaten mit denselben gelten kann.

Ich halte damit die Zugehörigkeit der Kulturflagellaten zu den Halteridien — wie es schon früher FÜLLEBORN und SCHAUDINN (nicht publiziert), sowie ROSENBUSCH angenommen haben — für erwiesen.

Es könnte der Einwand erhoben werden, daß ja auch bei verschiedenen Rindertrypanosomen der Nachweis nur durch die Züchtung

in vitro und nicht mikroskopisch gelungen sei (Martini (11), Crawley (12), Knuth (13)). Demgegenüber sei darauf hingewiesen, daß in diesen Fällen stets eine beträchtliche Menge Blut nötig war, im Gegensatz zu den winzigen Mengen bei meinen Versuchen.

Die Halteridienkulturen entwickelten sich in meinen Fällen stets am besten auf der Oberfläche des Kondenswassers, später verbreitete sich das Wachstum auch von dem dort gebildeten Häutchen aus auf die Agaroberfläche, wo sie als matter Überzug erschien. Die Kulturen waren leicht überimpfbar und sind bisher in mehr als 20 Generationen fortgezüchtet worden. In gut verschlossenen Röhrchen hielten sich die Kulturen monatelang (7 Monate beobachtet).

Morphologisch verhielten sich die Kulturen ungefähr genau so, wie es Rosenbusch für die Halteridien des Steinkauzes beschrieben hat. Auch meine Kulturen zeichneten sich durch eine starke Variabilität der Formen aus. Dabei kamen rundliche Formen auch schon in jüngeren Kulturen vor, häufiger aber in alten und dort sehr häufig geißellose Formen. In fast ausgetrockneten Röhrchen mit vielen runden unbeweglichen Formen kann man diese im hängenden Tropfen wieder beweglich werden sehen. Auch bei den großen Rosetten, die aus Hunderten von Individuen bestehen, werden die zunächst unbeweglich in der Mitte liegenden Formen nach einiger Zeit beweglich. Es erinnert dies lebhaft an das Verhalten von Flagellatenmassen im Darm von Tsetsen und Stechmücken.

Bezüglich der Kernverhältnisse sei auf die Arbeit von Rosenbusch (9) verwiesen, auf sie soll in dieser Arbeit nicht ausführlicher eingegangen werden. Erwähnt sei nur, daß sich zur Darstellung der Flagellaten die Giemsafärbung von Feuchtpräparaten (17) vorzüglich bewährt hat; sie scheint nach ähnlichen Erfahrungen an *Trypanosoma lewisi*-Kulturen besonders für das Studium von Flagellatenkulturen geeignet. Durch den Grad der Differenzierung hat man es in der Hand, den Kern zu überfärben oder in den Details seiner Struktur darzustellen. Bei dieser Methode tritt die wabige Struktur des Protoplasmas deutlich hervor. Bei den Kernen nimmt das Caryosom oft einen blauen Farbton an (Fig. 14 u. 15). Es fanden sich häufig auch Individuen mit zwei Kernen (Fig. 16); bei solchen scheint es nicht immer zur Teilung zu kommen, sondern es kann der eine Kern zugrunde gehen und ausgestoßen werden; so dürfte wohl Fig. 15 zu deuten sein. Außer der Geißel läßt sich bei den meisten Individuen noch ein System von Fibrillen sehr schön darstellen, von denen ein Teil am Hauptkern endet, ein Teil

aber bis zum hinteren Körperende verläuft (Fig. 14 u. 16). Auch hauptkernlose Formen (Fig. 17 u. 18) sind nicht selten, ob sie alle als Degenerationsformen anzusehen sind, wie Rosenbusch annimmt, erscheint mir noch nicht sicher. Auch in runden Formen (Fig. 19) sind manchmal noch rot gefärbte Fibrillen darstellbar. In alten Kulturen erscheint das Protoplasma grobwabig, mit großen lichtbrechenden Kugeln gefüllt. In Fig. 21 ist der Versuch gemacht, eine solche Form im ungefärbten Präparat darzustellen, die Form stammt aus einer 4 wöchigen Kultur, abgeimpft von einer 6 monatigen. Gefärbt stellen sich die Formen dar wie in Fig. 20. Diese Formen sind offenbar als Involutionsformen infolge Erschöpfung des Nährbodens aufzufassen.

Eine Infektion von Eulen mit den Kulturen gelang nicht, doch waren die zur Verfügung stehenden Vögel ausgewachsene Exemplare, die wohl schon die Infektion überstanden hatten und immun dagegen waren, auch die später versuchte direkte Blutüberimpfung bei diesen Vögeln ergab negative Resultate.

IV. Versuche zur Weiterentwicklung der Parasiten in Stechmücken.

Die Versuche wurden zuerst im Herbst 1909 mit wild gefangenen Exemplaren von *Culex pipiens* gemacht. Nachdem bei vielen Versuchen stets nur Ookinetenbildung beobachtet werden konnte, wurden bei infizierten Exemplaren große Mengen kleiner Flagellaten gesehen, die auch in großen Agglomeraten am Halsteil des Mitteldarmes angehäuft waren, in der Art wie es Schaudinn abbildet. Bald fanden sich aber auch unter den Kontrollmücken einige, die gleichfalls infiziert waren und die genauere Untersuchung ergab, daß es sich um einen *Leptomonas* handelte, wie sie bei Stechmücken bereits mehrfach beschrieben sind (Fig. 22). Nach diesen Mißerfolgen wurden die Versuche eine Zeitlang unterbrochen, da beabsichtigt war, möglichst mit gezüchteten, noch nüchternen Mücken zu operieren, da es mir nach Betrachtung der Resultate bei Tsetsefliegen (14) nicht unwahrscheinlich erschien, daß die Infektion von übertragenden Insekten bei der ersten Mahlzeit des Imago am sichersten zustande komme. Die Versuche wurden dann aber im Februar ds. J. wieder mit gefangenen Exemplaren begonnen, von der Voraussetzung ausgehend, daß vielleicht auch die Mücken nach

Aufzehren des Fettkörpers am Ende der Überwinterung bei der ersten Nahrungsaufnahme besonders geeignet seien zu solchen Infektionsversuchen. Da *Culex annulatus* viel seltener an unseren Fangplätzen vorkommt, wurden meist wieder *Culex pipiens* zu den Versuchen benutzt. Da aber die ersten positiven Resultate mit *Culex annulatus* erhalten wurden, seien zunächst die betreffenden Versuche hier angeführt:

Versuche mit *Culex annulatus.*

I. Ein *Culex annulatus* saugt am 17. II. an Halteridiumeule III. Am 25. II. getötet, Blut fast ganz verdaut; im ganzen Magen massenhafte lebhaft bewegliche schlanke Flagellaten.

II. Ein *Culex annulatus* saugt in der Nacht vom 23./24. II. an Eule III, am 26. sterbend gefunden und untersucht, Blut ziemlich verdaut, enthält „Würmchen“ und spärliche Flagellatenrosetten mitten im Blutkuchen.

III. Ein *Culex annulatus* saugt am 23.—24. II. an Eule III; am 28. II. tot aufgefunden. Blut fast verdaut; alles im Bereiche des Blutes bis in den Halsteil des Magens voll von Flagellaten.

IV. Ein *Culex annulatus* saugt am 25.—26. II. an Eule III; getötet am 1. III. Im Magen viel Blut; Flagellaten massenhaft; zahlreiche Ookineten; im Halsteil des Magens spärliche Flagellaten. In Speicheldrüsen keine Flagellaten.

V. Ein *Culex annulatus* saugt am 7. III. mittags an Eule III, am 8. III. 3 Uhr nachmittags untersucht, zahlreiche Flagellaten im Magen; Ookineten.

VI. Ein *Culex annulatus* saugt am 7. III. mittags an Eule III; untersucht am 9. III. (sterbend im Wasser gefunden), zahlreiche Flagellaten; Ookineten.

Kontrollen, die an gesunden Kanarienvögeln sogen und an verschiedenen Tagen untersucht wurden, blieben negativ. Alle Mücken werden während und nach dem Saugen bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Es gelang also bei 6 Versuchen jedesmal im *Culex annulatus* nach Saugen an einer mit Halteridien infizierten Eule Flagellaten im Magendarmtractus zur Entwicklung zu bringen.

Versuche mit *Culex pipiens.*

Bei den ersten Versuchen mit *Culex pipiens* gelang es nur einmal Flagellaten zu finden, bei der Untersuchung am 4. Tage. Es zeigte

sich bei den anderen Exemplaren stets nur Ookinetenbildung. Das positive Exemplar war das einzige, bei dem das Blut am 4. Tage noch nicht ganz verdaut war. Ich glaubte daher, daß die Ursachen meiner Mißerfolge bei *Culex pipiens* — und wahrscheinlich auch derjenigen der früheren Nachuntersucher — dadurch bedingt waren, daß die Verdauung des Blutes bei der Versuchsanordnung zu rasch vor sich geht. Auch Schaudinn betont schon ausdrücklich, wie wichtig die Temperatur für das Gelingen der Infektion ist.

Ich nahm daher die Versuche mit *Culex pipiens* so vor, daß ich die Mücken nach dem Saugen auf oder in den Eisschrank stellte, um die Verdauung zu verzögern.

Im folgenden seien als Beispiel der zahlreichen Versuche zwei Protokolle angeführt:

Versuch mit *Culex pipiens.*

In der Nacht vom 3./4. III. werden ca. 20 *Culex pipiens* an Eule III gesetzt, von denen 5—6 nicht saugen; dann 24 Stunden in, später auf den Eisschrank gestellt.

5\. III. 2 Stück untersucht: vereinzelte Ookineten.

7\. III. 2 Stück untersucht: Davon enthält eine wenige Flagellaten und viele würmchenartig bewegliche Ookineten, die andere massenhaft Flagellaten.

8\. III. 2 Stück untersucht, davon die eine massenhaft Flagellaten. Die zweite, bei der das Blut fast ganz verdaut ist, enthält nur langsam bewegliche Ookineten.

9\. III. Rest von 11 Stück (davon 5—6 nicht gesogen) untersucht. Meist alles Blut verdaut. 3 Mücken enthalten Flagellaten, davon 2 massenhaft, eine spärlich.

Kontrollversuch mit *Culex pipiens.*

Am 28. II.—1. III. saugen 29 *Culex pipiens* an gesundem Kanarienvogel, 24 Stunden in den Eisschrank, dann auf den Eisschrank gestellt.

5\. III. 2 Stück untersucht; Befund negativ.
7\. III. 2 „ „ „ „
8\. III. 2 „ „ „ „
9\. III. 22 „ „ „ „

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß tatsächlich bei der künstlichen Verzögerung der Verdauung es möglich war, durch Saugen an einer Halteridieneule bei der Mehrzahl der benutzten *Culex pipiens*-Mücken eine Infektion mit den Parasiten zu erreichen.

Es wurden in der Folge noch eine ganze Anzahl neuer derartiger Versuchsserien auch bei anderen Eulen angesetzt, stets mit dem gleichen Resultate, daß ein großer Prozentsatz (über 50 Proz.) der Versuchsmücken infiziert wurde. Bei Besprechung der *Leucocytozoen*-Befunde soll nochmals darauf zurückgekommen werden.

Es wurde dann auch versucht, ob unter diesen Versuchsbedingungen *Stegomyia calopus* sich infizieren ließe, was bei den positiven Ergebnissen damit bei *Proteosoma*-Infektion von Ed. u. Et. SERGENT (3) sowie R. O. NEUMANN (15) nicht unwahrscheinlich erschien. Die benutzten Mücken entstammten einer Zucht, die seit 1904 — aus Brasilien importiert – in Europa im Warmzimmer fortgezüchtet war.

Im folgenden das Protokoll eines derartigen Versuches:

Versuche mit *Stegomia calopus.*

Am 18./19. III. saugen Mücken an Eule III, dann Kaltstellen im Eisschrank.

23. III. 2 untersucht. Eine enthält spärliche Flagellaten und Ookineten, die andere nur Ookineten.
24. III. 7 untersucht, davon enthalten alle Ookineten, 2 spärliche, 1 viele Flagellaten.

Es kam also bei der niederen Temperatur von 4° R zu einer Entwicklung der Halteridien in Flagellaten auch in *Stegomyia.* Auch bei anderen Eulen (s. später bei der *Leucocytozoon*-Entwicklung) gelang der Versuch bei der Mehrzahl der Versuchsmücken. Kontrollen bei gesunden Vögeln, auch nicht infizierten Eulen, blieben negativ.

Da trotz der negativen Ergebnisse der Kontrollversuche an gesunden Vögeln der Einwand erhoben werden könnte, daß es sich um eine Kultur in vivo von Trypanosomen handele — besonders bei den Versuchen mit Verzögerung der Verdauung — wurden noch weitere Kontrollversuche angestellt mit absichtlicher Infektion von *Culex pipiens* und *Stegomyia calopus* mit Warmblütertrypanosomen.

I. Es werden *Culex pipiens* und *Stegomyia calopus* in größerer Zahl an einer mit *Trypanosoma lewisi* infizierten Ratte gefüttert und dann in den Eisschrank gestellt. Es zeigt sich bei täglicher Untersuchung einzelner Exemplare, daß *Trypanosoma lewisi* noch bis zu 14 Tagen in den Mücken am Leben blieb. Es kam aber zu keiner

Vermehrung, sondern es gehen von Tag zu Tag mehr Trypanosomen zugrunde und die zuletzt überlebenden sind kaum beweglich und degeneriert der Form nach.

II. Es wurde der Versuch auch mit Vogeltrypanosomen ausgeführt, und zwar mit *Trypanosoma paddae*: Es zeigte sich, daß *Tr. paddae* viel weniger widerstandsfähig ist, als *Tr. lewisi* und schon nach 2 mal 24 Stunden wurden keine lebenden Exemplare mehr gefunden.

Das Ergebnis dieser Kontrollversuche ist demnach, daß *Trypanosoma lewisi* in den Stechmücken bei niederer Temperatur einige Zeit am Leben bleibt, aber keine Vermehrung eintritt, während *Trypanosoma paddae* sehr rasch zugrunde geht. Es erscheint auch nach diesem Ergebnisse höchst unwahrscheinlich, daß die in den Versuchen mit infizierten Eulen in den Stechmücken zur Entwicklung gelangten Flagellaten etwa mitaufgesaugten Trypanosomen entsprechen könnten.

Das Gesamtergebnis der Versuche ist also, daß es unter natürlichen Bedingungen bei *Culex annulatus*, unter entsprechenden Versuchsanordnungen auch bei anderen Culiciden, nämlich *Culex pipiens* und *Stegomyia calopus* zu einer Bildung von Flagellaten aus den Ookineten von dem Halteridium des Waldkauzes kommt.

Zu einer Dauerinfektion, wie in den Versuchen SCHAUDINN's kam es in meinen Versuchen, trotz wiederholter Fütterungen, wie bei SCHAUDINN's Experimenten, bisher nicht. Vermutlich dürften diese Versuche erfolgreicher ausfallen, wenn dazu *Culex annulatus* in großer Zahl zur Verfügung steht; denn nach dem Ausfall der Versuche hat es den Anschein, als ob *Culex annulatus* der natürliche Überträger dieses Halteridium sei. [1])

V. Zur Morphologie der in den Mücken beobachteten Entwicklungsstadien des Halteridium.

Bei der Versuchsanordnung war von vornherein weniger beabsichtigt worden, gleich die SCHAUDINN'sche Arbeit auch in ihren

[1]) Anm. bei der Korrektur: Inzwischen konnte ich von 3 Dutzend *Culex annulatus* fast 100 Proz. infizieren, Kontrollen an gesunden Eulen und Reisvogel (mit *Trypanosoma paddae* und Halteridium blieben negativ.

genauen morphologischen Details nachzuprüfen, sondern die ganzen Versuche wurden mehr in der Absicht unternommen, die Tatsachen der Weiterentwicklung selbst zuerst einmal zu verfolgen.

Es wurden deshalb gerade in den ersten 24 Stunden, bezw. den ersten Tagen nach der Blutaufnahme nur ganz wenige Mücken untersucht, um bei möglichst vielen die volle Flagellatenentwicklung zu erhalten. Dazu kommt, daß wir ja — mit Ausnahme der sechs *Culex annulatus*-Versuche — mit atypischen Verdauungszuständen der Mücken zu tun hatten und deshalb schon von vornherein neben sich weiterentwickelnden, auch degenerierende Formen zu erwarten waren.

Es wurden daher weder die drei von Schaudinn so ausführlich beschriebenen Ookinetenformen, noch die Kernteilungen und -reduktionen systematisch verfolgt, dies möge späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Nach ca. 24 Stunden waren die beobachteten Ookineten meist in langsamer wurmartiger Bewegung. Bei einzelnen konnte eine Anhäufung des Chromatins im hinteren Körperende beobachtet werden. Als Beispiele für die um diese Zeit beobachteten Formen seien die Abbildungen 23—26 angeführt.

Weitere Mücken wurden erst nach ca. 3 mal 24 Stunden untersucht und bei diesen fanden sich — zum Teil neben Flagellaten — Ookineten in Übergangsstadien. In Figur 27 u. 28 ist bereits eine Differenzierung der Chromatinmasse deutlich erkennbar. Noch deutlicher ist dies bei den Formen 29, 30 u. 31; von denen 30 u. 31 schon ganz den Bau fertiger Flagellaten zeigen und bei 31 ein deutliches Fibrillensystem sich färberisch darstellen ließ.

Während diese Formen noch genau der Darstellung entsprechen, wie sie Schaudinn für die allmähliche Ausbildung des Geißelapparates gibt, so scheint bei zahlreichen Formen die Bildung der Flagellaten auf andere Weise vor sich zu gehen. Insbesondere wurden diesbezügliche Formen bei der durch Kälte verzögerten Verdauung beobachtet.

Bei diesen Formen werden nicht schon frühzeitig das Pigment und andere Einschlüsse ausgestoßen, sondern es scheint zu einer Kapselbildung zu kommen, wobei der Flagellat innerhalb der Kapsel fertig ausgebildet wird, die Geißel sich ähnlich wie bei anderen Flagellatencysten um den Protoplasmaleib herumschlingt und durch Platzen des Gebildes schließlich der Flagellat frei wird unter Zurückbleiben eines Restkörpers.

Die betreffenden Ookineten waren meist gleichzeitig mit freien Flagellaten vorhanden und es ließen sich im gefärbten Präparat zahl-

reiche Stadien finden, die für obige Auffassung sprachen. Im frischen Präparat erschienen diese Ookineten mehr körperlich, stärker lichtbrechend als die jungen Ookineten und waren unbeweglich; der Versuch sie zu isolieren und durch Druck zum Platzen zu bringen, gelang leider nicht. In den gefärbten Präparaten zeichneten sich diese Formen durch eine blauviolette bis dunkelrote Färbung aus, wobei öfters Detailstrukturen nicht mehr zu erkennen waren; Fig. 32 u. 33 stellen derartige Stadien dar. (Die folgenden jungen Flagellatenstadien stammen von denselben Mücken.) Was die helle Linie und Einschnürung in der Mitte bei Fig. 33 zu bedeuten hat, ist nicht ganz klar, ich halte es aber nach anderen Beobachtungen nicht für ausgeschlossen, daß es hier bereits innerhalb der Kapsel zu einer Zweiteilung gekommen ist.

In Fig. 34 ist ein junger Flagellat gemalt, bei dem die Geißel noch um den Leib geschlungen ist; Fig. 35 und 36 sind gleichfalls zwei freiwerdende Formen. In allen 3 Abbildungen sind noch Teile des Restkörpers vorhanden. In anderen Fällen bleibt aber die leere Kapsel besser erhalten und erscheint dann als hell blaurotes Gebilde, zum Teil noch mit Pigment und Protoplasmakörnern (Reduktionskörper?) bedeckt (Fig. 37 und 38). Hier könnte besonders Fig. 37 als degenerierter Ookinet aufgefaßt werden, was aber nach dem Befund ähnlicher Hüllen neben ganz jungen Flagellaten im gleichen Präparat ausgeschlossen erscheint; die Rißstelle würde der Stelle entsprechen, wo der Flagellat ausgetreten ist.

Ob diese Form der Flagellatenbildung etwas Atypisches durch die verzögerte Verdauung Bedingtes ist, kann ich bisher nicht entscheiden.

Die fertigen Flagellaten entsprechen wiederum ganz den Formen, die Schaudinn abbildet. Besonders schön darstellbar ist bei ihnen das Fibrillensystem, das den Geißelapparat bildet. Nach Färbung und Chromatingehalt lassen sich auch hier verschiedene Formen unterscheiden, die den von Schaudinn ausführlich geschilderten Geschlechts- bzw. indifferenten Formen entsprechen würden. In Fig. 39—42 sind einige Flagellaten abgebildet.

Es erübrigt sich noch auf Formen einzugehen, die den Schaudinn'schen männlichen Trypanosomen entsprechen. Es wurden nämlich einmal bei *Culex annulatus* IV im gefärbten Trockenanstrich 2 Häufchen ganz kleiner Flagellaten gesehen, die solche Gebilde darstellen dürften. Die Färbung war nicht sehr deutlich, aber in einzelnen der Formen waren 2 Kerne sichtbar, bei dem einen Häufchen lagen auch noch eine Anzahl von Pigment-

körnern. Fig. 43 und 44 geben die Formen — ohne jede Retouche — wieder. Dem Vorstadium zu solchen Formen, einem männlichen Ookineten, könnte Fig. 45 entsprechen.

VI. Die Züchtung der Flagellaten aus dem Mückenmagen.

Es wurde auch die Züchtung der oben beschriebenen Flagellaten nach dem Verfahren Novy's mit Erfolg versucht.

Als Nährmedium wurde der gewöhnliche Novy'sche Blutagar benutzt, der zum Teil in Kölbchen mit flachem Boden, zum Teil in Petrischalen ausgegossen war. Die Mücke wurde vor der Präparation in Alkohol absolutus eingetaucht und wieder getrocknet, der freipräparierte Magen sodann in Kochsalzlösung mehrmals abgespült und erst dann eröffnet. Der mit Kochsalzlösung verdünnte Inhalt wurde mit einer Capillare aufgesaugt, in ca. 1 ccm Kondenswasser von Novy-Agar ausgeblasen und mit diesem auf die Oberfläche der Schale bzw. des Kölbchens ausgegossen.

Nach 5—6 Tagen zeigten sich tautropfenartige Auflagerungen, die Reinkulturen von Flagellaten entsprachen und abgeimpft werden konnten. Die Kulturen konnten bisher in ca. 30 Generationen fortgezüchtet werden, sie verhalten sich beim Wachstum ganz ähnlich wie die Kulturen aus der Eule, nur scheinen sie noch wiederstandsfähiger gegen Verunreinigungen zu sein als diese und wachsen meist viel üppiger.

Mikroskopisch sind die Formen von den aus Blut gezüchteten kaum unterscheidbar, auch hier lassen sich die Strukturdetails mit der Giemsa-Färbung von feucht fixierten Präparaten ausgezeichnet darstellen (s. Fig. 46—49).

Da bei anderen Halteridien eine schizogonische Entwicklung im Blute nachgewiesen wurde, die Überträger offenbar andere sind, die Züchtung jener (Reisvogel und Taube) in Blutagar **nicht** gelingt, so glaube ich, daß eine Trennung der Arten herbeigeführt werden muß. Ich würde daher vorschlagen für die Parasiten, die sich analog den Eulenparasiten verhalten, den Namen *Halteridium* beizubehalten, für die anderen aber den Namen *Haemoproteus* zu belassen. Für das

oben beschriebene Halteridium habe ich schon früher den Namen *Halteridium syrnii* vorgeschlagen.

Am Schlusse dieses Abschnittes sei nochmals darauf hingewiesen, daß bereits 1904 ED. und ET. SERGENT die Flagellatenentwicklung in *Culex* nachweisen, ja Vogelreinfektionen erzielen konnten. Leider waren sie später selbst ihren eigenen Resultaten gegenüber skeptisch geworden, wenn sie sie auch nicht ganz zurückzogen („Nous sommes obligés de réserver l'interprétation des resultats de nos expériences"). So haben sich durch obige Ergebnisse auch die gewissenhaften Befunde dieser beiden Forscher als richtig erwiesen, und ich bin überzeugt, daß es auch der weiteren Forschung gelingen wird, die übrigen SCHAUDINN'schen Angaben der Halteridienentwicklung zu bestätigen. Hierher gehört vor allem auch der Cyclus im Blute der Eule, der wohl vor allem bei jungen, frisch infizierten Eulen nachzuprüfen wäre.

VII. Über das Leucocytozoon des Waldkauzes im Eulenblut.

Mehr noch als die Frage der Entwicklung der Halteridien haben vielleicht SCHAUDINN's Befunde über das *Leucocytozoon* Zweifel erregt, um so mehr als ein Teil seiner Beobachtungen bei anderen Leucocytozoen nicht bestätigt werden konnte. Erwähnt sei nur der mehrfach geführte Nachweis, daß solche Parasiten nicht die Blutzellen in sich aufnehmen, sondern heranwachsende Formen in solchen Zellen mehrfach beobachtet wurden. Trotzdem konnte der Gegenbeweis für einen Wechsel der Ruhe- und Bewegungsstadien im Blut der Eule bisher nicht geführt werden und manches sprach dafür, daß diese Annahme doch richtig sei. So wurden die von SCHAUDINN als Bewegungsstadien aufgefaßten großen merkwürdigen Trypanosomen bereits mehrfach gesehen; NOCHT und Verf. haben im Handbuch der pathog. Mikroorganismen eine solche Form photographisch wiedergegeben.

Um zunächst auf die Formen des *Leucocytozoon* im Blut von *Syrnium aluco* einzugehen, so boten die Beobachtungen an den Ruheformen nichts Besonderes; im frischen Präparat kam es zur Geißelung der Microgametocyten, wie schon mehrfach beschrieben.

Es wurden aber bei 3 Eulen jene großen Trypanosomenformen gesehen, die SCHAUDINN für Bewegungsstadien der *Leucocytozoen* hält, eine Ansicht, die ich, wenn auch der nähere Beweis von Übergangsstadien noch nicht gelungen ist, für richtig halte.

Das erste Tier, das äußerst stark mit *Leucocytozoen*, *Halteridien* und *Filarien* infiziert war, starb leider am Tage der Ankunft.

Die zweite Eule, die seit dem 14. VI. 1909 in Beobachtung ist, war bei Ankunft stark mit Halteridien infiziert und ganz spärlich mit Leucocytozoen. Es war dasjenige Tier, das zu den meisten Versuchen, da die Halteridieninfektion viele Monate stark blieb, stets mitverwendet und daher am häufigsten untersucht wurde. Bald nach der Ankunft fanden wir nie mehr die typischen Leucocytozoenformen und erst am 21. I. 1910 werden wieder mehrere solche und 2 Trypanosomenformen beobachtet; der Befund blieb mehrere Tage bestehen. (Leider wurde versäumt, an diesen Tagen Kulturen anzulegen.)

Bei der dritten Eule wurden die beweglichen Formen nur einmal beobachtet.

Die beobachteten Gebilde entsprechen meist den SCHAUDINN'schen weiblichen Formen, charakterisiert im gefärbten Präparat durch die dunkelblaue Färbung, eine sehr gut ausgebildete undulierende Membran, wobei der Randfaden manchmal wie doppelt konturiert erschien, und durch Myoneme. Diese stellen sich als ungefärbte parallele Linien dar, die über den Kern hinweggehen (s. Fig 50). Männliche Formen wurden nicht gesehen, dagegen wurde eine merkwürdige Form gesehen mit rotvioletter Färbung an den Körperenden (Fig. 51).

Für die Zugehörigkeit dieser Trypanosomenformen zu den Leucocytozoen spricht, daß sie stets nur vergesellschaftet mit solchen beobachtet wurden.

VIII. Stechmückenversuche.

Die Versuche wurden an 2 Eulen aus Wien gemacht, von denen die eine (A) neben Halteridien wenige Leucocytozoon-Ruhe- und Bewegungsformen enthielt, die zweite (B) viele Ruheformen und keine Bewegungsformen.

Im folgenden kurz die zwei Protokolle:

Versuch mit *Culex pipiens.*

Am 14./15. III. 1910 saugen *Culex pipiens* an beiden Eulen (A und B) und werden dann in den Eisschrank gebracht.

16. III. je eine Mücke von A und B untersucht: vereinzelte kleine Ookineten, noch unveränderte Leucocytozoen.

17. III. je eine Mücke von A und B untersucht: kleine Ookineten, vereinzelte große wie Würmchen bewegliche Ookineten bei A gesehen, im gefärbten Präparat bei A und B gefunden.

18. III. 1 Mücke von A negativ, von B kleine Flagellaten zahlreich.

19. III. 2 Mücken „ „; eine negativ, eine zahlreiche kleine Flagellaten.

21. III. 2 „ „ „; beide kleine Ookineten, eine kleine Flagellaten zahlreich.

24. III. 3 Mücken von A; eine ohne Blut negativ, zwei mit Blut zahlreiche kleine Flagellaten.
2 „ „ B leer, negativ.

Versuch mit *Stegomyia calopus.*

Die Stegomyien werden am 6./7. IV. 1910 an Eule B (mit Halteridien und vielen Leucocytozoenruheformen) angesetzt.

14. IV. 2 Mücken untersucht: eine kleine Flagellaten; eine ebensolche und große schmale Flagellaten.

16. IV. 4 Mücken untersucht:
a) wenig kleine; zahlreiche große, ganz schmale Flagellaten, die sich mit weiten Spirochätenwindungen bewegen.
b) zahlreiche kleine und große schmale Flagellaten.
c) „ „ „ „ „ „
d) „ „ Flagellaten und ein großer Ookinet.

Es werden gefärbte Präparate angefertigt.

Es gelang also auch hier in zwei Versuchen einen Teil der SCHAUDINN'schen Leucocytozoenentwicklung in den Stechmücken zu bestätigen, auch hier konnte die Entwicklung nur bis zu gewissen Stadien verfolgt werden.

Die Ookineten (Fig. 52, 53, 54) zeigen neben Vacuolen verschiedene Chromatinanordnung; die Entscheidung, ob hier zum Teil schon degenerative Vorgänge mitspielen, ist nicht zu treffen.

Die großen schmalen Flagellaten gleichen in ihrer Bewegung absolut der Art der Fortbewegung von Spirochäten. In Fig. 56 ist eine charakteristische Form abgebildet, die vielleicht ein männliches Individuum darstellt, während 55 und 57 mehr einem weiblichen Typus entsprechen. Bei der Bildung von Agglomerationen werden die Formen plumper, doch gehören solche, wie sie in Fig. 58 abgebildet sind, zweifellos in den Cyclus.

Die großen Flagellatenformen entsprechen ganz den von Rosenbusch in seinen Kulturen beschriebenen, die auch er für Entwicklungsformen von Leucocytozoen hält.

Eine Weiterentwicklung im Sinne Schaudinn's wurde nicht beobachtet: die eine Eule wurde zu anderen Zwecken bald getötet, die zweite starb, so daß die Versuche bis auf weiteres abgebrochen werden mußten.

IX. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Bei Waldkäuzen (*Syrnium aluco*) wurde ein Halteridium gefunden, das charakterisiert ist durch eine konstante Doppelkernigkeit der jüngeren Stadien und durch Protoplasma-Granulationen der älteren Formen, die eine Avidität für Alkali haben und sich mit alkalischer Giemsa-Lösung dunkelviolett färben.

2. Es gelang die Züchtung von Flagellaten aus dem Blut der infizierten Eulen, bei denen einwandfrei die Zugehörigkeit zu den Halteridien nachgewiesen werden konnte, und zwar durch die Züchtung aus einzelnen Tropfen Blut, die sich mikroskopisch genau untersuchen ließen, ferner durch die Züchtung unter dem Deckglas und schließlich durch die Beobachtung junger Formen mit jenen alkaliphilen Granula.

3. Die Halteridien entwickeln sich in Culiciden zu Flagellaten weiter, und zwar in *Culex annulatus* bei Zimmertemperatur, in *Culex pipiens* und *Stegomyia calopus* bei kühler Temperatur (durch Verzögerung der Verdauung). Die Flagellatenentwicklung geschieht zum Teil wie bei den Halteridien des Steinkauzes nach Schaudinn's Befunden, zum Teil wahrscheinlich durch eine Art Kapselbildung innerhalb der Ookineten. Die fertigen Flagellaten entsprechen ganz den von Schaudinn gesehenen Formen. Zweimal wurden auch bei *Culex annulatus* Häufchen winziger Flagellaten gesehen (männliche Formen Schaudinn's).

Die Flagellaten aus dem Mückenmagen konnten in Blutagar rein gezüchtet werden und glichen ganz den aus dem Blut der Eule direkt gezüchteten.

Für das Halteridium wird der Name *Halteridium syrnii* vorgeschlagen. (Der Name *Haemoproteus* würde für die Halteridien mit anderer Entwicklung und anderen Überträgern beizubehalten sein.)

4. Neben einem *Leucocytozoon* des Waldkauzes wurden im Blut Bewegungsformen analog den Beschreibungen Schaudinn's gefunden, die stets nur mit ihm vergesellschaftet bisher beobachtet wurden und wohl in seinen Cyclus gehören.

Eine teilweise Weiterentwicklung des *Leucocytozoon* in *Culex pipiens* und *Stegomyia calopus* im Sinne Schaudinn's wurde beobachtet und zwar die Bildung großer Ookineten und später großer schlanker Flagellaten, die sich nach Art von Spirochäten fortbewegten.

5. Es konnte somit die Arbeit Fritz Schaudinn's über Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte in wichtigen Punkten bestätigt werden.

Literaturverzeichnis.

1) Schaudinn, Fritz: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20 1904 S. 387.

2) Sergent, Ed. et Et.: Hémamibes des Oiseaux et Moustiques. „Generations alternantes“ de Schaudinn. VI. intern. Zool. Kongr. Bern 1904 u. Compt. rend. soc. biol. T. 58 1905 p. 57.

3) —: Etudes sur les Hématozoaires d'Oiseaux etc. Annales Pasteur T. XXI 1907 p. 251.

4) Mayer, Martin: Über die Entwicklung von Halteridium. (Vorl. Mitteil.) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 14 1910 S. 197.

5) Woodcock: On the occurence of nuclear dimorphism in a Halteridium etc. Quart. Journ. of Micr. science N. S. Vol. 53 1909.

6) Berliner, Ernst: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 1909 S. 297.

7) Cardamatis: Le paludisme des oiseaux en Grèce. Centralbl. f. Bakteriol. I. Bd. 52 1909 S. 351.

8) Laveran et Mesnil: Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1905 p. 357 u. Compt. rend. soc. biol. T. 55 1903 p. 328.

9) Rosenbusch: Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 1909 S. 261.

10) França: Notes sur la biologie des trypanosomes. Arch. do Real Inst. Bact. Camara Pestana T. II 1908 p. 43.

11) Martini: The development of a piroplasma and trypanosoma of cattle in artificial culture media. Philippine Journal of science ser. B. Vol. IV 1909 p. 147.

12) CRAWLEY: Studies on blood and blood parasites. U. S. Depart. of Agric. Bureau of animal industr. Bullet. 119, Oct. 1909.

13) KNUTH u. RAUCHBAAR: Nachweis von Trypanosomen beim Rinde usw. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1910 Nr. 27.

13) — —: Zum Vorkommen von Trypanosomen bei Rindern usw. Ibid. 1910 Nr. 31.

14) KEYSSELITZ u. M. MAYER: Zur Frage der Entwicklung von Trypanosoma brucei in Glossina. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908 S. 532.

15) R. O. NEUMANN: Die Übertragung von Plasmodium praecox usw. Arch. f. Protistenk. Bd. 13 1909 S. 23.

16) NOVY and MAC NEAL: On the trypanosomes of birds. Journ. of infectious diseases Vol. 2 1905 p. 256.

17) GIEMSA: Über die Färbung von Feuchtpräparaten mit meiner Azur-Eosinmethode. Deutsche med. Wochenschr. 1909 S. 1751.

Tafelerklärung.

Vergrößerung bei allen Bildern: ZEISS Apochr. 2 mm, Oc. 8; Objekttischhöhe.

Färbung: GIEMSA-Färbung; bei Fig. 10, 14—20 und 46—49 nach feuchter Fixierung, bei den anderen im Trockenpräparat.

Tafel XXII.

Fig. 1—9. *Halteridium syrnii* im Eulenblut.

Fig. 1—4. Jüngere doppelkernige Parasiten.

Fig. 5. Männliche Form bei gewöhnlicher Färbung mit Vacuolen im Protoplasma.

Fig. 6. Weibliche Form bei gewöhnlicher Färbung mit Vacuolen im Protoplasma.

Fig, 7. Weibliche Form bei stärkerer Färbung mit roten Granula.

Fig. 8. Männliche Form, Alkalizusatz, gute Granulafärbung.

Fig. 9. Weibliche Form, Alkalizusatz, gute Granulafärbung.

Fig. 10. Trypanosoma in Lebertupfpräparat.

Fig. 11. Junger freier Parasit.

Fig. 12—21. Halteridiumflagellaten aus Blutkultur.

Fig. 12. Form aus 4tägiger Kultur; ungefärbt (Dr. PROWAZEK del.).

Fig. 13. Form aus 4tägiger Kultur mit alkaliphilen Granula.

Fig. 14—19. Verschiedene Flagellatentypen aus 14tägiger Kultur.

Fig. 20. Flagellaten mit vacuolisiertem Protoplasma aus 6monatiger Kultur.

Fig. 21. Dasselbe, lebend gezeichnet.

Fig. 22. Leptomonaden aus *Culex pipiens*.

Fig. 23—26. Ookineten von Halteridien in *Culex pipiens*, ca. 24 Stunden nach Saugen.

Fig. 27 u. 28. Ookinet aus *Culex annulatus* IV, nach mehr als 2 × 24 Stunden.

Fig. 29—31. Ookineten aus *Culex pipiens*, nach 3 × 24 Stunden; Geißelanlage.

Fig. 32. Ookinet mit dunklem Plasma und viel Chromatin, *Culex pipiens*, nach 3 × 24 Stunden.

Fig. 33. Ookinet mit dunklem Plasma, *Stegomyia*, 6./7.—14. IV. (Kapselbildung?)

Fig. 34 u. 36. Junge Flagellaten, *Stegomyia*, 6./7. —14. IV; Restkörper.

Fig. 35. Junger Flagellat, *Culex pipiens*, 3 × 24 Stunden, Restkörper.

Fig. 37 u. 38. Leere Ookineten (Kapseln?), *Stegomyia*, 6./7.—14. IV.

Fig. 39—42. Verschiedene Flagellatenformen aus *Culex* und *Stegomyia*.

Fig. 43 u. 44. Häufchen kleinster Flagellaten aus *Culex annulatus* IV (25./26. II.—1. III.).

Fig. 45. Männlicher Ookinet?

Fig. 46—49. Aus *Culex* gezüchtete Halteridienflagellaten; 4 wöchentliche Kultur.

Tafel XXIII.

Fig. 50 u. 51. Große Trypanosomenformen, als Bewegungsstadien von Leucocytozoon aufgefaßt.

Fig. 52. Großer Ookinet von Leucocytozoon aus *Culex pipiens*; 3 × 24 Stunden nach Saugen.

Fig. 53. Dasselbe; 48 Stunden nach Saugen.

Fig. 54. Dasselbe; 3 × 24 Stunden nach Saugen.

Fig. 55—58. Große Flagellaten von Leucocytozoon aus *Stegomyia*, 6./7.—16. IV; verschiedene Formen.

Nachträge zu den Kernstrukturen und Kernäquivalenten bei Bakterien.

Von

Em. Mencl, Prag.[1])

(Hierzu Tafel XXIV.)

(Alle auf der Tafel abgebildeten Figuren sind bei LEITZ Hom. Immers. $^1/_{12}$ und Okular Nr. 4 gezeichnet.)

Die bisherigen Befunde von Kernen und Kernstrukturen bei verschiedenen Bakterien wurden von verschiedenen Seiten in verschiedener Weise aufgefaßt. Die einen haben diesbetreffende Aufschlüsse einer eingehenden Kritik unterworfen, wie es die Wichtigkeit des Gegenstandes verdient, die anderen haben in vielen Punkten am anderen Material die positiven Tatsachen bestätigt. Diese Behandlungsart der Sache hat aber leider nur wenig Vertreter gefunden — eine weit größere Mehrzahl von Autoren hat die überzeugendsten Beschreibungen und naturgetreu abgebildeten Tatsachen einfach für „Artefakte“ oder „Irrtümer“ erklärt, oder, wenn sie die Richtigkeit des Geschilderten doch anerkannt haben, die Organismen selbst für etwas anderes als Bakterien erklärt. Es ist wahr, daß die ersten Befunde von Bakterienkernen an nicht näher bestimmten oder sogar bisher unbekannten Arten gemacht worden sind — die Natur aber der betreffenden Organismen läßt nach unseren

---

[1]) Herr Privatdozent Dr. E. MENCL aus Prag ist während des Druckes dieser Arbeit verstorben. Im nächsten Heft, das gleichfalls noch eine Arbeit von ihm bringen wird, soll ein Nachruf erscheinen. Red.



bisherigen Kenntnissen auf nichts anderes schließen als auf Bakterien. Übrigens müßten diejenigen, welche die Angehörigkeit der in Rede stehenden Arten zu den Bakterien leugnen, uns früher eine klare Definition dessen, was ein Bakterium eigentlich ist, geben — denn eine solche fehlt uns noch heute, obzwar die Bakteriologie selbst zu einer sehr inhalts- und umfangreichen Disziplin angewachsen ist, vollkommen — geradeso wie wir eines wissenschaftlichen Systems der Bakterien entbehren.

Heute aber, wo die Frage von der Variabilität der äußeren Form, ja sogar die Frage von der Cytologie und dem Entwicklungsgang der Bakterien schon einmal aufgewirbelt worden ist, heute also genügt uns die primitive Einteilung der Schizomyceten in Kokken, Bakterien im engeren Sinne, Bacillen usw. nicht mehr.

Wenn wir uns nun doch auf den etwas übertriebenen Standpunkt derjenigen Autoren stellen, welche behaupten, daß die bisher beschriebenen kernhaltigen Bakterien überhaupt keine Bakterien sind, eben weil sie kernhaltig sind — ein noëtisch selbstverständlich ganz falscher Schluß — und wenn wir diese Anschauungsweise damit unterstützen, daß die kernhaltigen „vermeintlichen“ Bakterien nicht näher bestimmt sind — so bleibt hier noch eine kleine Gruppe von Organismen, deren Angehörigkeit zu den Bakterien doch niemand leugnen wird, nämlich der *Micrococcus butyricus* und die Sarcinen übrig, bei welchen ich das Glück gehabt habe, einen unzweideutigen Kern feststellen zu können.

Es verdiente die Sache, alle Einwände, die manche Autoren auf Grund eigener Untersuchungen gegen meine Anschauungsweise, welche zwar wenige aber doch manche Autoren teilen, ins Feld führen, eingehend zu prüfen und zu analysieren, dies aber nur insofern, soweit sich die Einwände auf morphologischem Boden bewegen. Denn meiner Überzeugung nach hat es keinen Wert und kann keinen Einfluß auf die Auffassung und Ausarbeitung unserer Frage ausüben, wenn gegen die Kerne der Bakterien die sog. „mikrochemischen“ Reaktionen verschiedenartigster Bestandteile und „Granulationen“ der Bakterienzelle angeführt werden. Denn von den alltäglichsten Objekten, welche wir unendlich besser kennen als die Bakterienzelle, wissen wir ganz genau, wie wenig wir die gemeinsten Färbungen beherrschen. So z. B. ist jedem Histologen ganz genau das sehr schwankende Verhalten bekannt von den üblichsten Plasmafärbungen gegen ein und dasselbe Material unter denselben Bedingungen. Es gibt auch bei den geläufigsten und einfachsten Methoden unter einer großen Anzahl verschiedenster Faktoren doch einen kleinen un-

bekannten Faktor, der unsere Resultate ganz ungemein zu beeinflussen imstande ist. Oder, wer kennt die manchmal so auffallenden Abweichungen der sonst ganz regelmäßigen Giemsafärbung bei Blutpräparaten, wo einmal aus ganz unbekannten Gründen bei vollkommener Neutralität des Ausstriches z. B. die rote Eosinfärbung von Erythrocyten ganz ausbleibt, so daß dieselben vollkommen farblos erscheinen, ja sogar manchmal einen merkwürdigen grünen Ton annehmen. Solche Beispiele sind in der Technik ungemein zahlreich.

Einen geradezu vernichtenden Beweis für die Unzulässigkeit einer Beurteilung von verschiedenartigsten Bestandteilen der Zelle auf Grund der sog. „mikrochemischen Reaktion" liefern uns unter anderen diejenigen Autoren, welche in klarster Weise, wie z. B. unlängst Němec [1]) auf Grund von sorgfältigsten und reinlichsten Versuchen nachgewiesen hatte, daß die einmal so gepriesene und für universal angesehene Methode, die nie jemand im Stiche läßt, über die peptische und tryptische Verdaulichkeit bzw. Unverdaulichkeit der Nucleine usw. nicht immer zutrifft, daß also die ganze „sichere" Methode für ähnliche differentiale Versuche ganz unbrauchbar ist. Chromatin und Plasma verschiedener Herkunft weisen gegen solche tierische sowie pflanzliche Enzyme verschiedenes Verhalten auf.

Und was von der künstlichen Verdauung gilt, das gilt in viel höherem Maße von den Farbreaktionen, deren Wirkung wir nicht beherrschen und bei denen die chemischen Gesetze ihrer Wirkung uns so gut wie ganz unbekannt sind.

Abgesehen von diesen Gründen aus der Technik selbst halte ich solche „mikrochemische" Einwände für meine Person schon deswegen für bedeutungslos, weil einfach der Begriff „Zellkern" ein morphologischer Begriff und kein chemischer ist — und zwar so, daß ein Körper, dessen Teilung direkt die Teilung des Plasma verursacht, ein Kern ist —, seine Affinität gegen verschiedene Farbstoffe geradeso wie eventuelle Abneigung gegen solche ist hier gleichgültig; die Färbung unserer Präparate ist keine chemische Reaktion, kein Kriterium, kein sozusagen Indikator — sie ist ein bloßes Hilfsmittel. Und das gilt so lange, solange wir keine Mikrochemie haben, wie es heute der Fall ist. Die Kerne und die Chromatinmassen vieler Protisten färben sich mit Plasmafarbstoffen (Eosin); manche mit Plasmafarbstoffen und zugleich mit gewissen, vielleicht nicht allen Kernfarbstoffen usw.; das Tannin, welches wir

[1]) Über die Natur der Bakterienprotoplasten. Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. 1908 Bd. 26a Heft 10.



„mikrochemisch“ nicht nachweisen können, kehrt die ganze „mikrochemische Reaktion“ von Plasma- und Kernfarbstoffen um — kurz und gut, unsere „mikrochemischen“ Mittel sind in dieser Beziehung äußerst unsicher! Es bleibt uns nichts anderes übrig, als uns in solchen schwierigen Fällen auf rein morphologische Kriterien zu verlassen. Was haben eigentlich die ganzen mikrochemischen — ich will keineswegs sagen, sie wären nicht sehr interessant — Prüfungen der Bakterienzelle unseren Kenntnissen der Cytologie der Bakterien beigetragen? Nichts — nur ein paar neue Termine hat man ins Leben geweckt, welche rein chemisch unkontrollierbar und morphologisch unbrauchbar sind.

Diesmal sei mir gestattet auf einige kleinere und während anderweitiger Untersuchungen nur nebenbei beobachtete Tatsachen kurz hinzuweisen, welche entweder das schon früher Bekannte bestätigen, oder auch hier und da Kleinigkeiten an den Tag fördern.

Die in Fig. 1 und 2 abgebildeten Bakterien sind nach einem HEIDENHAIN'schen Präparate gezeichnet und gehören einer Wasserart welche ich nicht bestimmen konnte, da mir dieselbe bereits am fertigen Präparate vom Assistenten unseres Instituts Dr. ČEJKA übergeben wurde mit freundlicher Bewilligung zur Publikation. Ich danke dem genannten Herrn an dieser Stelle für die Überlassung des Objektes aufs herzlichste. Die Mehrzahl dieser Bakterien zeigt mindestens in gewissen Stadien eine ausgesprochene dichtwabige Struktur. Doch findet man eine Menge von Individuen, welche den Baumodus von *Bacterium gammari* in äußerst auffallender Weise wiederholen. Hier geradeso wie dort begegnet man Stäbchen, welche in der Mitte einen Chromatinring tragen, bei welchem sich manchmal bei genauer Beobachtung herausstellt, daß es sich um eine feine kreisförmige Kontur (Kernmembran?) handelt, welcher innen chromatische, schwarzgefärbte Kügelchen anliegen (Fig. 1 α, β; Fig. 2 α, β); oder es verteilt sich manchmal die schwarzgefärbte Substanz mehr oder weniger regelmäßig an der gesamten Peripherie des Gebildes (Fig. 1 γ—ξ z. B.). Doch aber auch in solchen Fällen, wo die ganze Peripherie des Kernes — und es kann sich doch um nichts anderes handeln — gefärbt ist, wo also das Chromatin so verteilt ist, findet man im Kerne hier und da außer dem peripherwärts mehr oder weniger gleichmäßig verteilten Chromatin auch kleine Chromatinkügelchen, welche entweder in Mehrzahl (Fig. 1 η; Fig. 2 γ) oder zu zwei und dann regelmäßig diametral gegenüberstehend im Kern vorhanden sind (Fig. 1 δ). Es ist nicht ausgeschlossen, daß diese Kerne mit paarweise gegenübergestellten

Chromatinbröckelchen die ersten Anfangsstadien der Teilung vorstellen. Die Teilung der Zelle selbst leitet Teilung und Auseinanderrücken der Chromatinmasse ein — doch kann ich nicht sagen, ob in die Tochterzellen je zwei von den Tochterchromosomen oder nur je eins übergeht. Beiderlei Fälle kommen nicht selten vor, doch bin ich geneigt anzunehmen, daß der erste Teilungsmodus häufiger vorzukommen pflegt, da die Tetraden von Chromatinkügelchen viel öfters zu finden sind (Fig. 1 ι—λ; Fig 2 δ—$\varkappa$) als nur je zwei in der Längsachse stehende und voneinander strebende Chromatinkugeln (Fig 1 μ; Fig. 2 λ, μ). In einzelnen Fällen sind die Zwischenräume zwischen den Tochter-Chromatinkugeln grau gefärbt — es befindet sich zwischen denselben also eine dichtere Masse (Fig. 1 γ, ξ; Fig, 2 $\varkappa$, μ). Besonders interessant sind solche Fälle, wo diese dichtere Substanz von plasmatischen Färbeigenschaften konische Form annimmt, und zwar so, daß in den Ecken der Basis die Chromatinkugeln zu liegen kommen, wogegen im Scheitelpunkte ein kleines Körnchen eingebettet ist (Fig. 1 o, π; Fig. 2 γ, ξ); es sind dies dieselben Verhältnisse, die Vejdovský, welcher solche Figuren für Teilungsspindeln hält, zuerst bei *Bacterium gammari* festgestellt hat und welche ich an seinen Präparaten nach einer tiefergehenden Differenzierung der Farbe von neuem beschrieben habe. Damit ist das Vorkommen der betreffenden Figuren auch für andere Bakterien als das klassische *B. gammari* festgestellt und die früheren Befunde an diesem Objekte bestätigt.

Außer diesen Stadien kommen hie und da vereinzelte Stäbchen vor, welche schlank sind, an den Enden jederseits eine Spore mit einem Birnenkörperchen tragen. Die Sporen weisen an den Ansatzstellen am Stäbchen eine plättchenförmige tiefere Verfärbung auf (Fig. 1 links unten).

Während meiner Untersuchungen über die Cytologie von *Azotobacter chroococcum* habe ich außer den mir gütigst von Herrn Prof. Dr. E. Godlewski in Krakau zugeschickten Zuckeragarkulturen auch einige Versuche zur Isolierung der genannten Art aus dem Gartenhumus der Molkerei- und Landwirtschaftsschule in Pilsen unternommen. Nachdem eine sorgfältige Aussaat in einer Petrischale gemacht wurde, sind auf dem Nährboden außer verschiedenen anderen Organismen auch vier charakteristische Arten in Form von

sehr winzigen weißen und gelblichen Kolonien erschienen, welche ich, da ihr Wachstum nur langsam war, auf Kartoffeln überimpfte und drei Tage in einem Thermostate von 37.3° C hielt. Mittels der bekannten polychromen Methylenblaulösung und, wo es nötig schien, auch nach früher schon beschriebener Glycerindifferenzierung gelangte ich zu sehr interessanten Bildern, die ich in den vier Abbildungen, deren jede einer Art entspricht, veranschaulicht habe.

Die in Fig. 3 abgebildete Art hat eine elliptische oder länglich ovale Form, weist eine deutliche Zellmembran, welche aber ganz durchläßlich zu sein scheint, da die Färbung intra vitam keine besonderen Schwierigkeiten verursachte. Gleich nach der Überimpfung auf die Kartoffeln wiesen die Zellen etwa nach drei Tagen einen in der Mitte der Zelle, oder oft auch zwei in der Längsachse gelegene chromatische Körner. Diese Körnchen teilen sich und zwar geht der vollendeten Zweiteilung des Kügelchens eine hantelförmige Figur voran. Diese hantelförmigen Figürchen sind aber sehr kurz und müssen, wie meine diesbezüglichen Erfahrungen an den Fadenbakterien der Prager Wasserleitung lehrten, von solchen Figuren auseinander gehalten werden, welche eine anfangs blässere, später aber, nachdem sich das an dieser Achse ursprünglich in der Kugelform aufgespeicherte Chromatin gleichmäßiger verteilt hat, eine dunkle mehr oder weniger gerade Achse bilden, welche das Stäbchen fast der ganzen Länge nach durchläuft. Wenn sich das Chromatin zuerst an den Endpunkten der „Achse“ ansammelt, so täuscht das Ganze natürlich eine lange hantelartige Teilungsfigur vor. Ich bin überzeugt, daß solche Figuren, wie ich sie eben beschreibe und deren einige Beispiele in der Fig. 3 veranschaulicht sind, sich eher der von mir, wie erwähnt, zuerst beobachteten Chromatinfäden und den Swellengrebel infolge schwieriger technischer Vorbehandlung nur etwas unvollkommen, von Dobell aber in prachtvoller und vollkommener Weise dargestellten klassischen Chromatinspiralen [1]) nähern, indem sie eine Entwicklungsvorstufe der letzteren zu bilden scheinen.

Außerdem finden wir bei dieser Art eine Teilungsweise, welche derjenigen von mir beschriebenen bei *Micrococcus ochraceus* und den Sarcinen übereinstimmt; die Teilung eines zentral gelegenen Chromatinkügelchens leitet geradeso, wie es bei der erwähnten Micrococcusart und bei den Sarcinen der Fall war, die Teilung der ganzen Zelle

---

[1]) Mencl bei Cladotricheen, Swellengrebel bei *Bacillus maximus buccalis*. Dobell bei *Bacillus spirogyra* und *Bacillus lunula*.

ein, nachdem sich die beiden durch Teilung entstandenen Tochterchromatine auf eine gewisse Strecke voneinander entfernt haben. Die Fig. 3 führt einige Beispiele dieser Tatsachen vor und ich glaube, daß die Sache sonst keiner näheren Besprechung bedarf.

Noch in einem Punkte scheint hier und da die in Rede stehende Art eine Ähnlichkeit mit dem *Micrococcus* und Sarcinen zu besitzen. Hier wie dort sieht man manchmal, daß die chromatischen Bestandteile des Bakteriums in einem hellen, farblosen Hofe zu liegen pflegen, der sich ziemlich auffallend von dem sonst bläulich gefärbten Protoplasma abhebt (siehe Fig. 3).

Eine andere Art, welche ich aus dem Gartenboden gezüchtet habe, weist auf den sterilisierten Kartoffeln eine ziemlich weitgehende Variabilität, was die Form betrifft. Doch sind hier die Verhältnisse denjenigen bei der ersten soeben beschriebenen Art ganz analog, was die innere Beschaffenheit anbelangt. Die chromatische Substanz nimmt die Mitte der Zelle ein und bildet einen homogenen Körper, welcher vor der Teilung der Zelle selbst einer Zweiteilung unterliegt. Es kommen aber, obzwar bei dieser Art sehr selten, auch Tetraden vor. In einer Menge von Fällen finden wir in der Zelle eine krumme, zwei- oder mehreremal gebogene graue Linie, welche manchmal mehr oder weniger regelmäßig spiralenartig durchläuft und an welche sich Chromatinkörnchen von verschiedener Zahl und Größe anheften. Es sind dies dieselben Vorgänge, welche ich vor Jahren bei gewissen Stadien der Cladothrixfäden beschrieben habe (Fig. 4 α—ε). Wenn sich das Chromatin in genügender Menge an der früher grauen Spirale angespeichert hat, so erscheint die Spirale ganz schwarz, aber varikös (Fig 4 ξ, η).

Das weitere Schicksal dieser Spiralen habe ich nicht ermittelt — nur soviel scheint sicher, daß es regelmäßig nach einer ausgiebigen Chromatinbildung zum Ausgleiche aller Varikositäten kommt, also zu einer sozusagen Homogenisation der Chromatinspirale; die fertige Chromatinspirale erscheint dann zierlich gewunden und ganz glatt, was in sehr schöner Weise die letzten zwei von mir gezüchteten Bakterienarten zeigen, von welchen einige Beispiele nach der Vitalfärbung an den Fig. 5 und 6 veranschaulicht sind.

An der Fig. 5 sehen wir außer den verschiedenen Modi der Chromatinverteilung in der Zelle bei α eine Spirale, welche fast

vollkommen mit Chromatinkörnchen bedeckt ist; doch sind hier die einzelnen Körnchen voneinander wohl zu unterscheiden, so daß das Ganze eine variköse Schleife bildet, welche sich durch die ganze Zelle von einem Pole zum anderen zieht. Dagegen hat sich in dem Stäbchen β bereits eine scharf umgrenzte homogene Chromatinspirale gebildet; eine kürzere Spirale bei γ trägt an beiden Enden je eine Chromatinkugel.

Sehr schöne und zahlreiche Spiralen hat die vierte an der Fig. 6 abgebildete Art aufzuweisen. Bei dieser Art sind die Spiralen regelmäßig sehr stark gewunden und sind solchen Stadien entsprossen, wo man eine graue Spirale mit einigen, hier ziemlich großen Chromatinkugeln besetzt wahrnimmt. Diese Spiralen sind der Schärfe und Gediegenheit der Ausbildung den schönen von Dobell beschriebenen Gebilden ganz gleich und können nicht mit den Gebilden, welche Guilliermond bei einem Bacillus aus dem Verdauungstraktus von *Echinocardium cordatum* beschrieben hat, verglichen werden. In diesem letzteren Falle handelt es sich (Compt. rend. hebdom. de la Société de Biologie, T. 67 1909 pag 102) um morphologisch wahrscheinlich gleichwertige Gebilde mit den soeben beschriebenen Spiralen — sie werden aber von dem von Dobell und mir dargestellten an Schärfe weit übertroffen; damit aber verlieren natürlich die analogen Befunde von Guilliermond nichts an ihrer Bedeutung. Die Übereinstimmung in dem Vorhandensein dieser Spiralen bei verschiedenen Bakterienarten weist deutlich darauf hin, daß durch die Chromatinspiralen ein bestimmtes Entwicklungsstadium der Bakterien, das recht weit verbreitet sein wird, gekennzeichnet wird.

Two Thousand Generations of Paramaecium.

By
Lorande Loss Woodruff,
Sheffield Biological Laboratory, Yale University, New Haven, U. S. A.

(With Plates XXV—XVII.)

Investigations on the reproduction of the Infusoria have shown that many species of ciliates pass through quite a definite cycle of reproductive activity when subjected for a long period of time to a comparatively stable culture medium. CALKINS [1]), WOODRUFF [2]), and GREGORY [3]) have shown further that definite changes in the culture medium at critical times in the life of the organisms, when the division rate eis at a minimum, may initiate another period of reproductive activity. It is well established, I believe, that the infusorian life history is characterized by a general decline of the division potential ending in death when the organisms are subjected to a constant environment, and also that the life history may be prolonged by the opportune use of certain stimuli.

The periodic variations in the rate of multiplication of Infusoria under constant culture conditions I have defined as follows:

A rhythm is a minor periodic rise and fall of the fission rate, due to some unknown factor in cell metabolism, from which recovery is autonomous.

---

[1]) G. N. CALKINS: Studies on the Life History of Protozoa. I. The Life Cycle of Paramaecium caudatum. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen XV, 1. — III. The Six Hundred and Twentieth Generation of Paramaecium caudatum. Biol. Bull. III, V. 5. — IV. Death of the A Series of Paramaecium caudatum. Conclusions. Journ. of Exper. Zool. I, 3.

[2]) L. L. WOODRUFF: An Experimental Study on the Life History of Hypotrichous Infusoria. Journ. of Exper. Zool. II, 4.

[3]) L. H. GREGORY: Observations on the Life History of Tillina magna. Journ. of Exper. Zool. VI, 3.



A cycle is a periodic rise and fall of the fission rate, extending over a varying number of rhythms, and ending in the extinction of the race unless it is "rejuvenated" by conjugation or by changed environment.

This suggests that it may be possible to eliminate the cyclical character of the rate of reproduction by constantly subjecting the Infusoria to a varied environment, and the present investigation is an endeavor to breed *Paramaecium aurelia* for an indefinite period on a varied culture medium, without conjugation or the use of artificial stimuli. I have previously published the results obtained to June, 1909, and the present paper brings the data up to September 21, 1910. The reader is referred to the earlier papers [1]) for further details of the culture and for a general discussion, etc.

This pedigree culture was started on May 1, 1907 with a "wild" *Paramaecium aurelia* which was found in a laboratory aquarium, and was carried on at Williams College, Williamstown, Mass., during May and June, 1907; and at the Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Mass., during parts of the summers of 1907 through 1910; and at the Sheffield Biological Laboratory of Yale University, New Haven, Conn., during the academic years from 1907 to the present time, September, 1910.

The original specimen was placed in about five drops of culture fluid on a glass slide having a central ground concavity, and when the animal had divided twice, producing four individuals, each of these was isolated on a separate slide to form the four lines, I a, I b, I c, and I d, of this culture, *Paramaecium* I. The pedigree culture has been maintained by the isolation of a specimen from each of these lines practically every day up to the present time, thus precluding the possibility of conjugation taking place between sister cells. Up to the present time, however, there has been no tendency to conjugate among the paramaecia of this culture and a large series of experiments, which have been made with the individuals left over from the four lines of the culture after the daily isolations, have, so far, yielded not a single pair of conjugants.

The number of divisions of each line has been recorded daily at the time of isolation and the average rate of these four lines has been again averaged for five-, ten-, and thirty-day periods

---

[1]) L. L. Woodruff: The Life Cycle of Paramaecium when Subjected to a Varied Environment. Amer. Naturalist XLII, 500. — Further Studies on the Life Cycle of Paramaecium. Biol. Bull. XVII, 4.

(cf. figures 1, 2, and 3). Permanent preparations have been preserved from time to time for the study of the cytological changes during the life history.

From May, 1907, through January, 1908, the culture medium consisted of infusions of hay and grass, but no particular care was taken to keep the medium the same from day to day, except during periods in which the culture served as the control for certain experiments.[1]) In some cases the liquid was used as soon after it had been boiled as it had attained the room temperature, in other cases it was allowed to stand in a stoppered flask for twenty-four hours or more. But from February, 1908, to the present time a more varied culture medium has been used. It was found that Paramaecium would live in nearly any infusion of materials collected in swamps and ponds, and therefore, in an endeavor to supply as far as possible all the elements which may be encountered in the usual abode of the organism, materials for the infusions were taken practically at random from laboratory aquaria, hay infusions, ponds, etc. The infusions were thoroughly boiled to prevent the contamination of the pure lines of the pedigree culture by wild individuals.

This culture of *Paramaecium aurelia* has attained the two thousandth generation during the forty-one months it has been under observation[2]). The organisms have divided on the average over three times every forty-eight hours during the entire period. The fission rate has averaged higher than five divisions in forty-eight hours for several ten-day periods, while it has never averaged as low as one division in forty-eight hours during a single ten-day period. It is needless for me to analyze further the division rate as it is graphically plotted in the accompanying charts.

Up to the present time, then, this culture has not completed a "cycle" and all the rises and falls in vitality as shown by the fission rate are simply rhythms as I have previously defined that term. I have already interpreted as rhythms the tri-monthly depressions in vitality which the earlier workers on Paramaecium have noted, and the results derived from this culture suggest that the semi-annual "cycles" are also actually rhythms from which recovery was not autonomous under the conditions of a constant

[1]) L. L. Woodruff: Effects of Alcohol on the Life Cycle of Infusoria. Biol. Bull. XV, 3. — The Relative Toxicity of Various Salts and Acids toward Paramaecium. (With H. H. Bunzel.) Amer. Journ. Physiol. XXV, 4.

[2]) On December 5, 1910 (the day proof was read) the culture had reached the 2121 st generation.



environment of hay infusion. The term cycle is a relative one but I think it would be necessary to extend the conception of the cycle too greatly to make it include the life history of the present culture.

I believe this culture shows clearly that *Paramaecium aurelia*, when subjected to suitable culture conditions, has the power of unlimited reproduction by division without conjugation or artificial stimulation. The a priori conclusions of WEISMANN and others, in regard to the unlimited reproductive power of the Protozoa, gain new support from the fact that the individual Paramaecium, isolated nearly three and one half years ago to start this pedigree culture, has had the potentiality to divide (so far) over two thousand times at an average rate of more than three divisions every forty-eight hours, and the organisms of this generation are in as normal morphological and physiological condition as their ancestor.

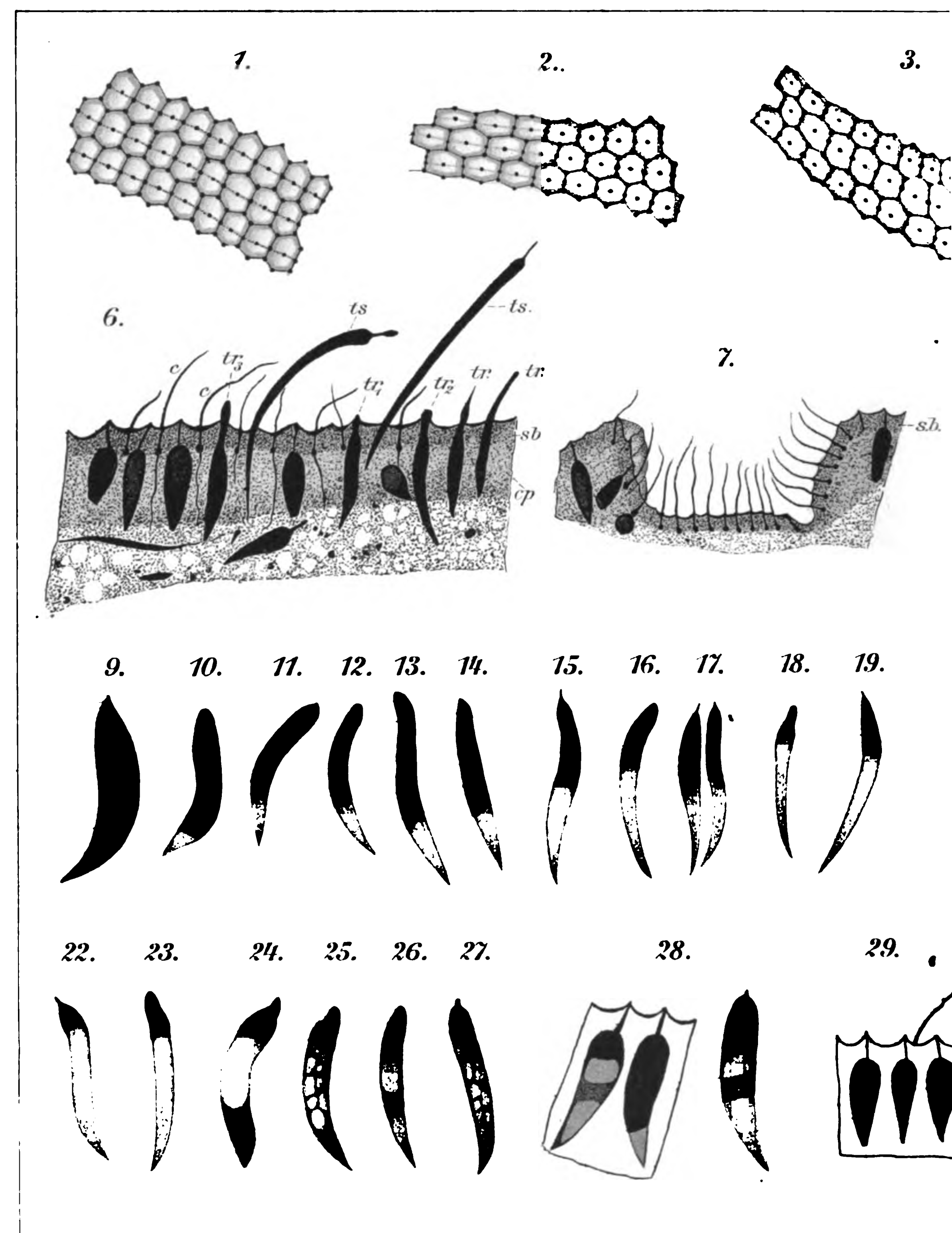
Plate XXV—XXVII.

Fig. 1. Complete history of *Paramaecium aurelia*, Culture I, from start on May 1, 1907, to the present time, September 21, 1910, at the 2000th generation. The rate of division is averaged for five-day periods. The ordinates represent the average daily rate of division of the four lines of the culture. Above, the numbers of the five-day periods are indicated. Below, are designated the periods in which the fifteenth day of the respective months occurred. The figures, 100, 200, etc., represent generations, and are placed in the periods in which they were attained.

Fig. 2. Complete history of *Paramaecium aurelia*, Culture I, from start on May 1, 1907, to the present time, September 21, 1910, at the 2000th generation. The rate of division is averaged for ten-day periods. The ordinates represent the average daily rate of division of the four lines of the culture. Above, the numbers of the ten-day periods are indicated. Below, are designated the periods in which the fifteenth day of the respective months occurred. The figures, 100, 200, etc., represent generations and are placed in the periods in which they were attained.

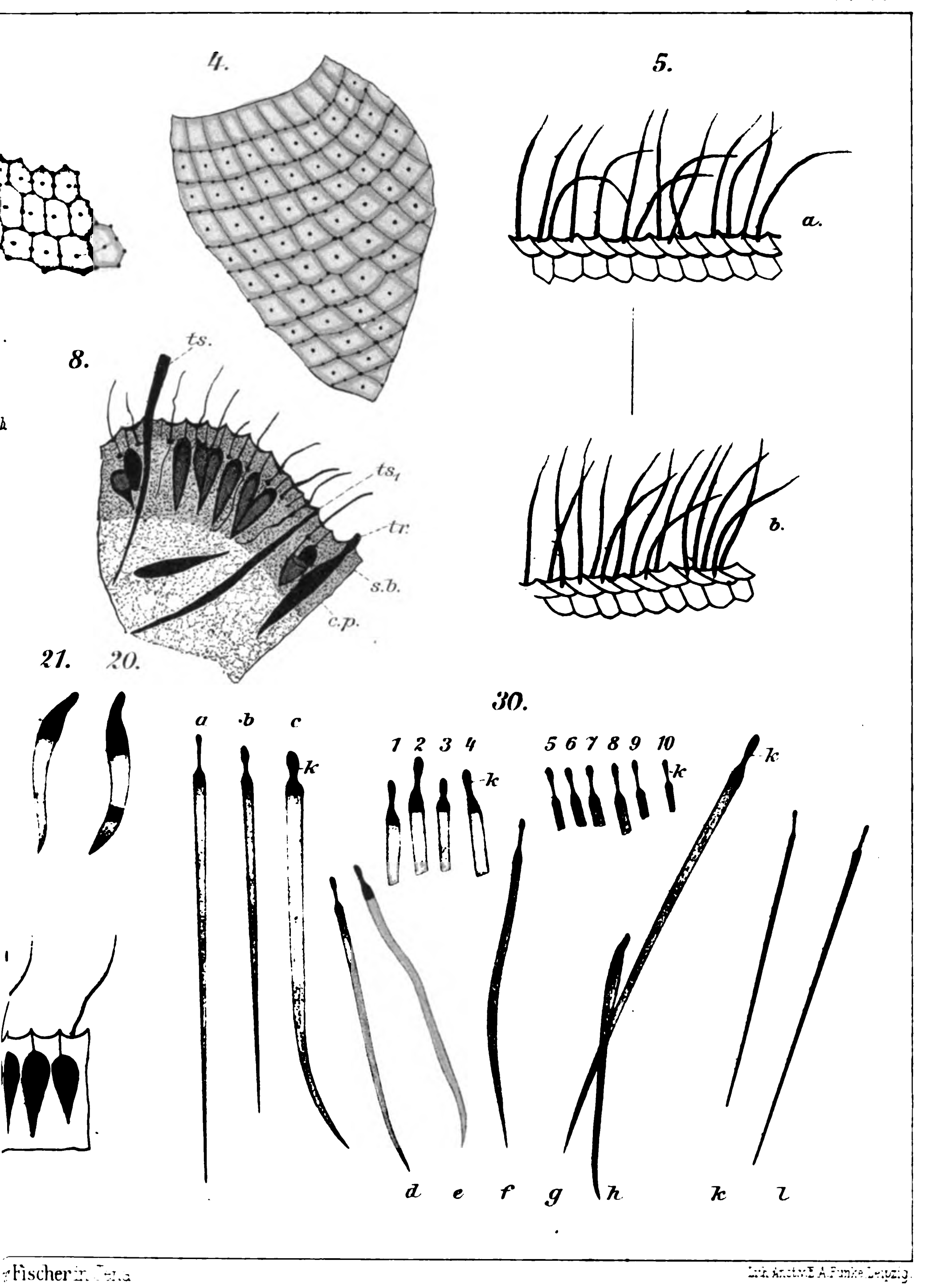
Fig. 3. Complete history of *Paramaecium aurelia*, Culture I, from start on May 1, 1907, to the present time, September 21, 1910, at the 2000th generation. The rate of division is averaged for each month of the life of the culture. The ordinates represent the average daily rate of division of the four lines of the culture.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdruckerei), G. m. b. H., Naumburg a. S.



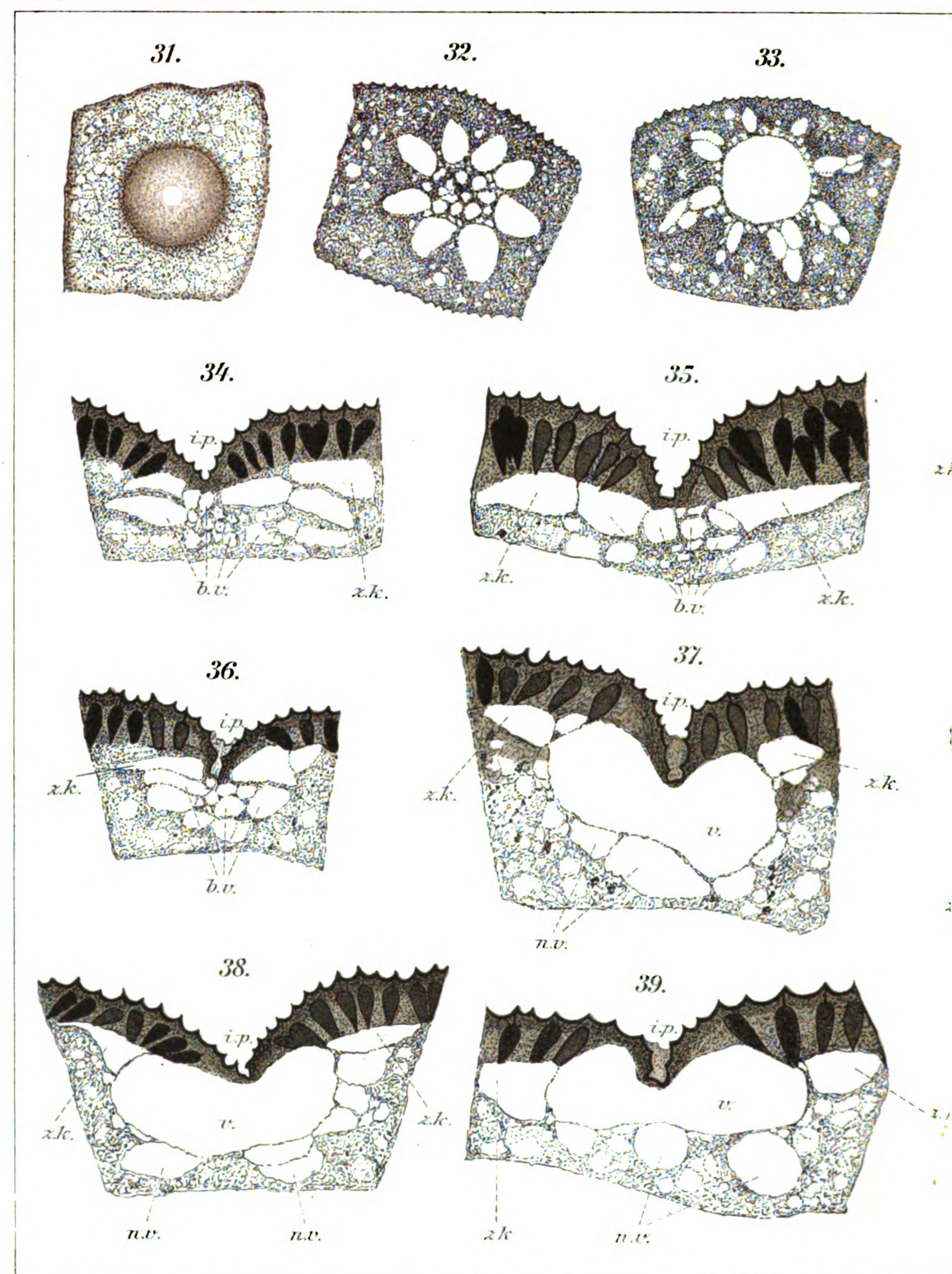
Verlag von Gustav

Taf. 1.



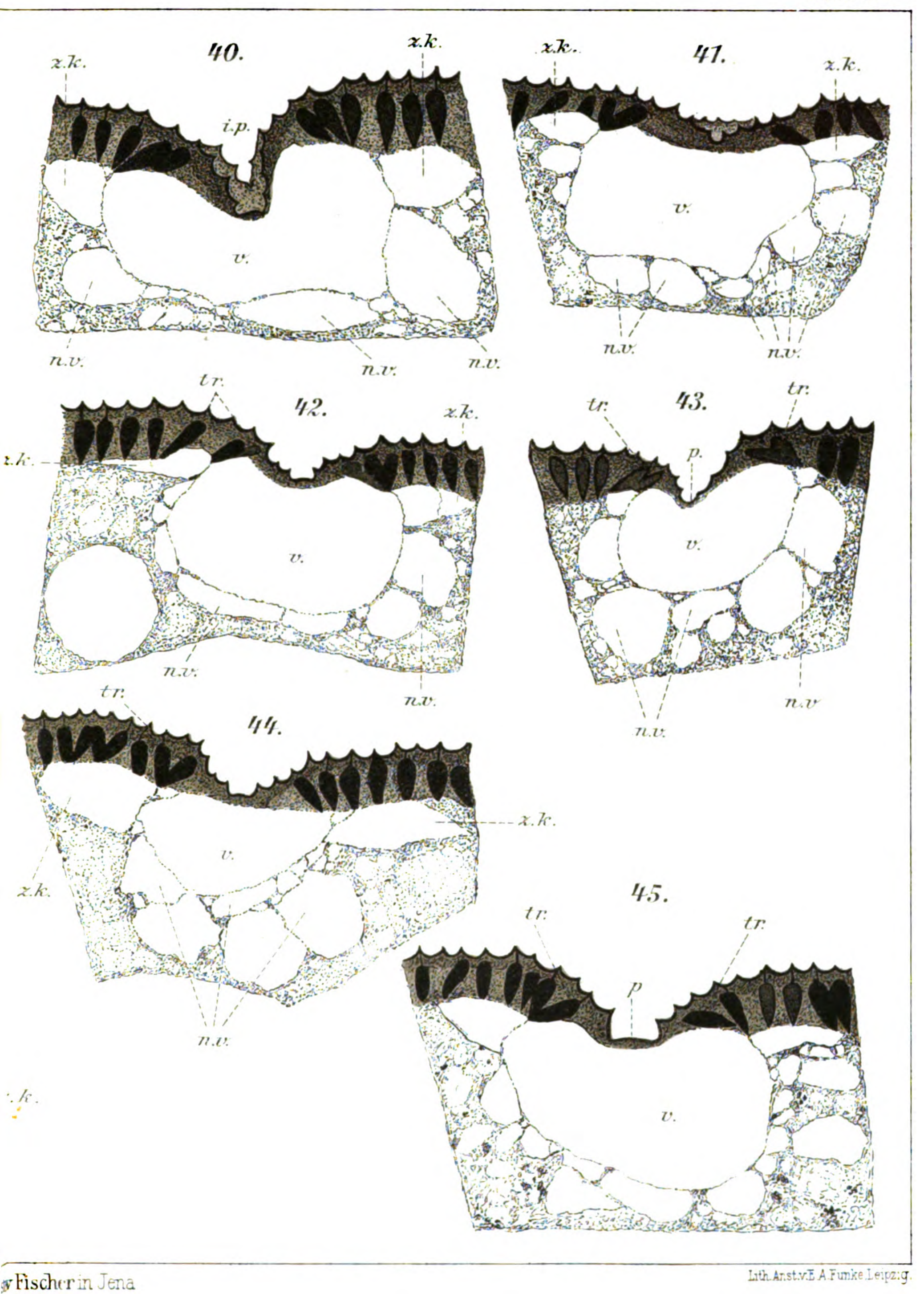
Fischer in Jena

Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig.



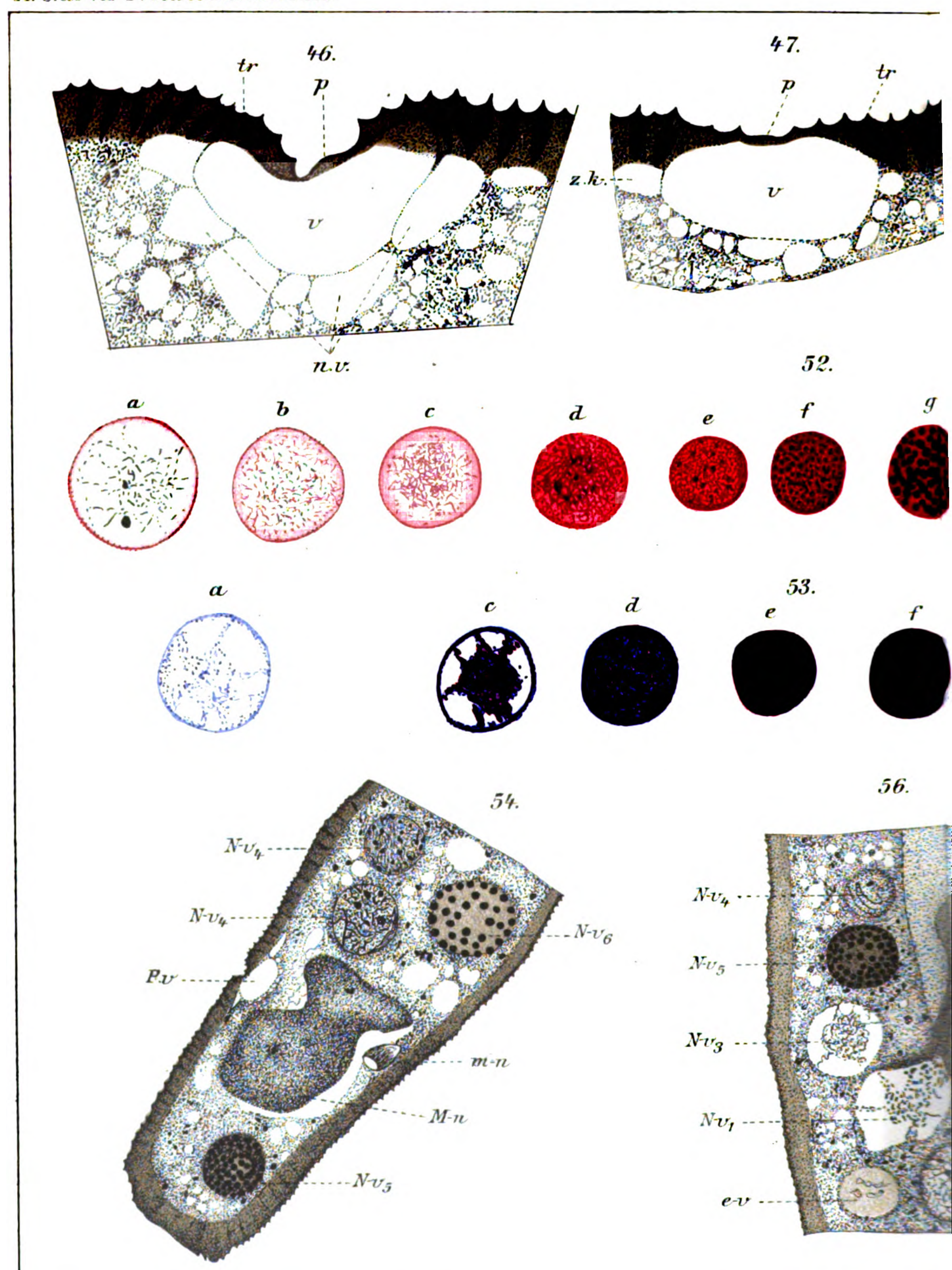
Khainsky.

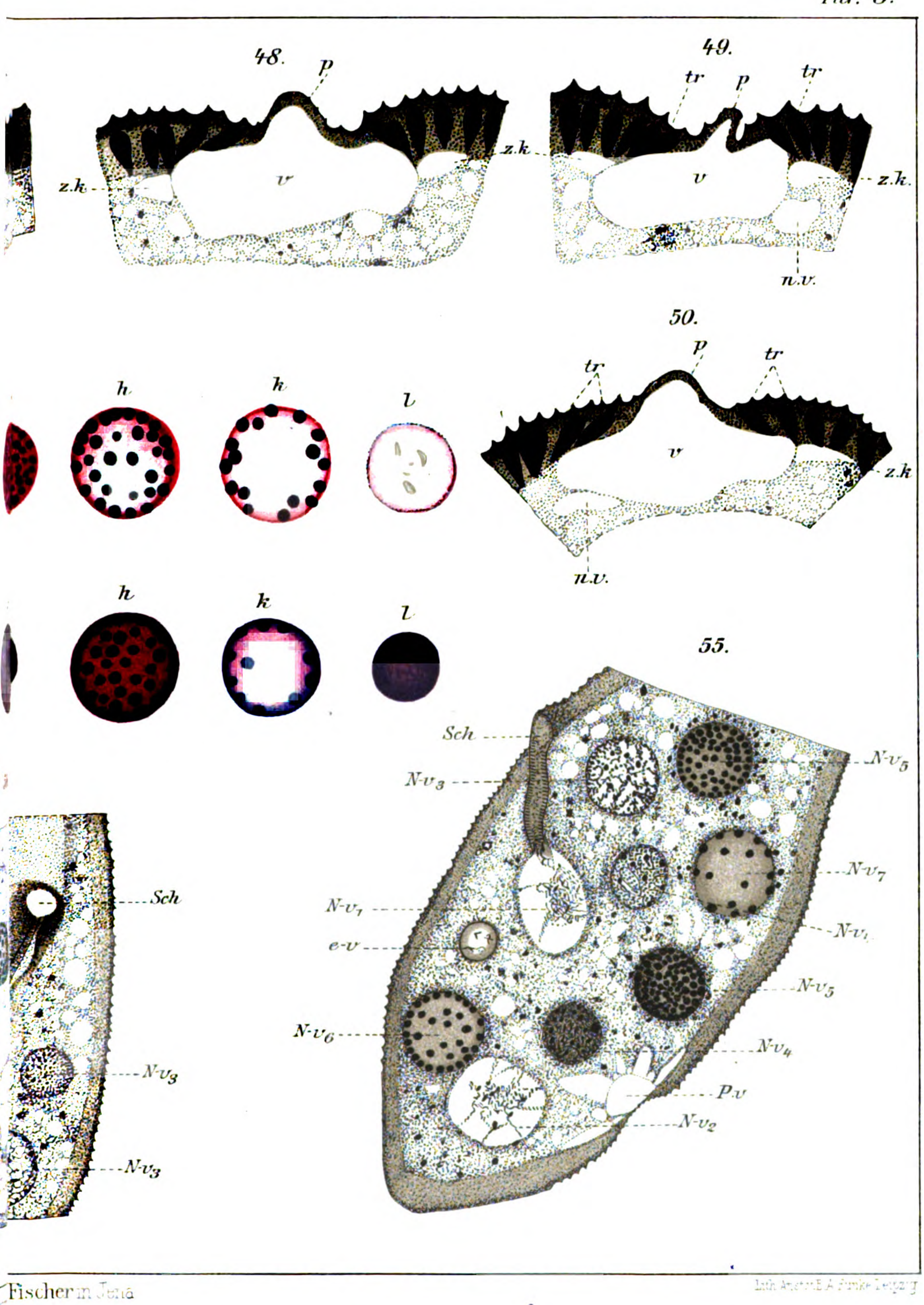
Verlag von Gustav F



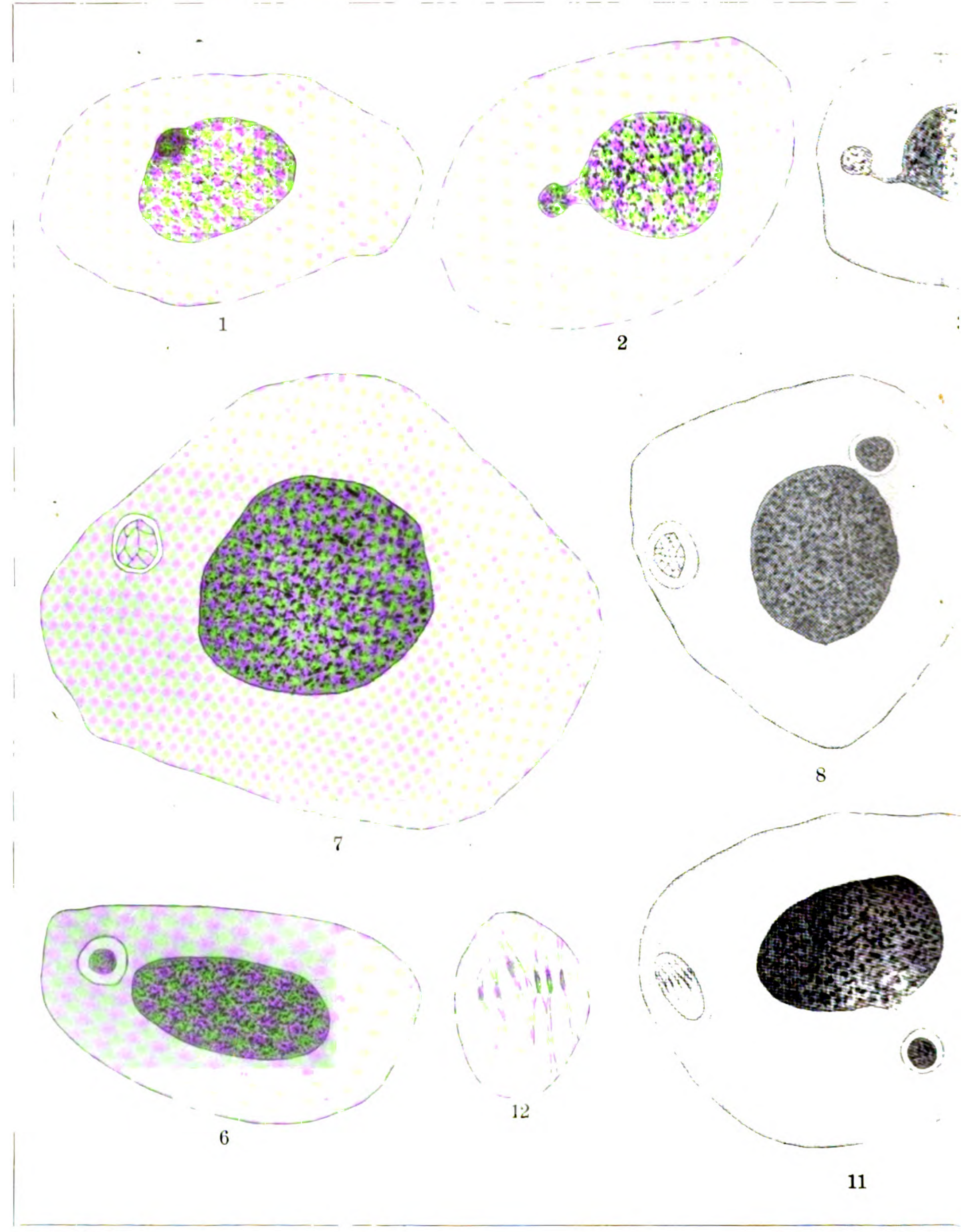
y Fischer in Jena

Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig.


46.
tr
p
z.k.
v
n.v.
47.
p
tr
v
52.
a
b
c
d
e
f
g
a
53.
c
d
e
f
54.
N-v4
N-v4
N-v6
P.v
m-n
M-n
N-v5
56.
N-v4
N-v5
N-v3
N-v1
e-v

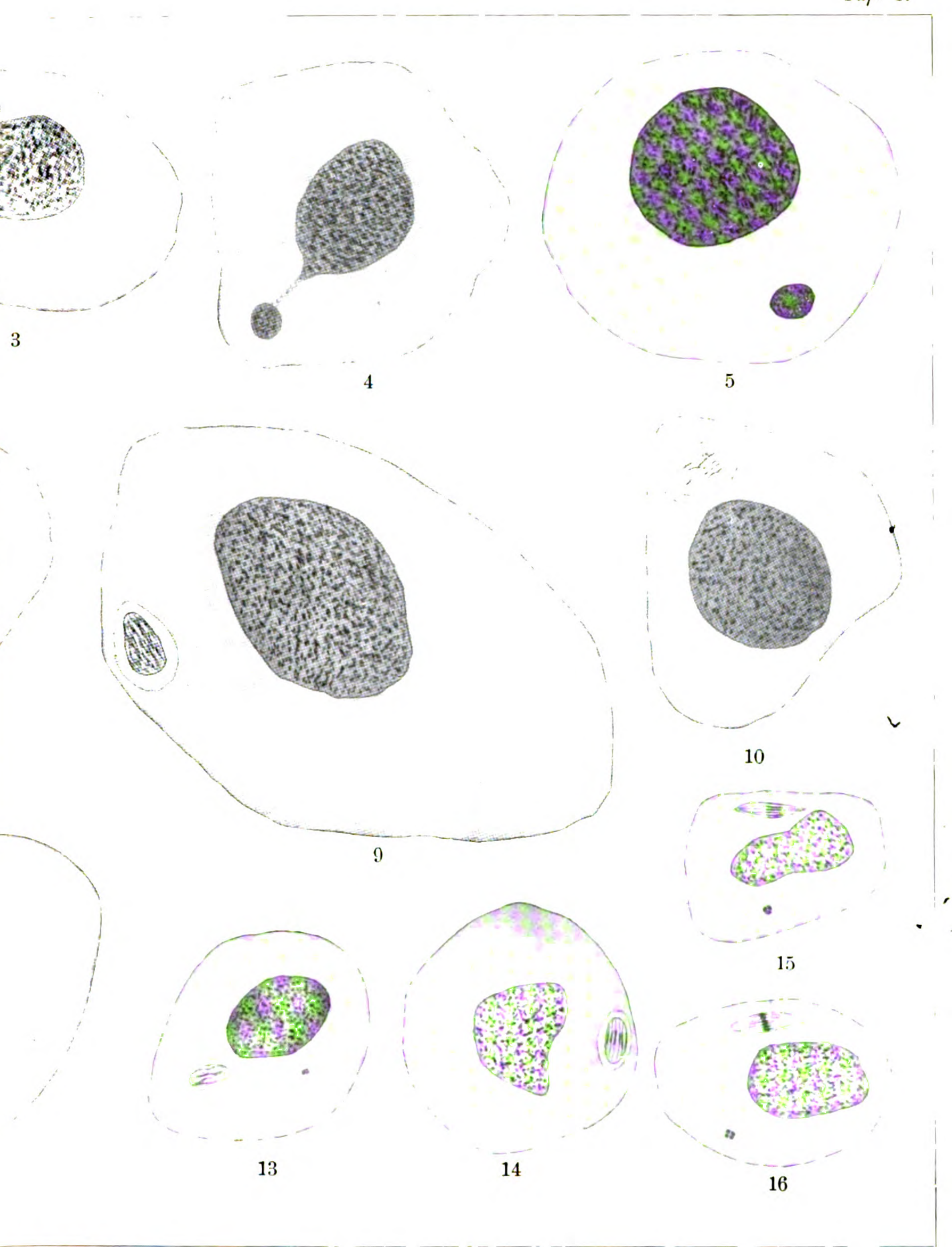


Fischer in Jena
Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig

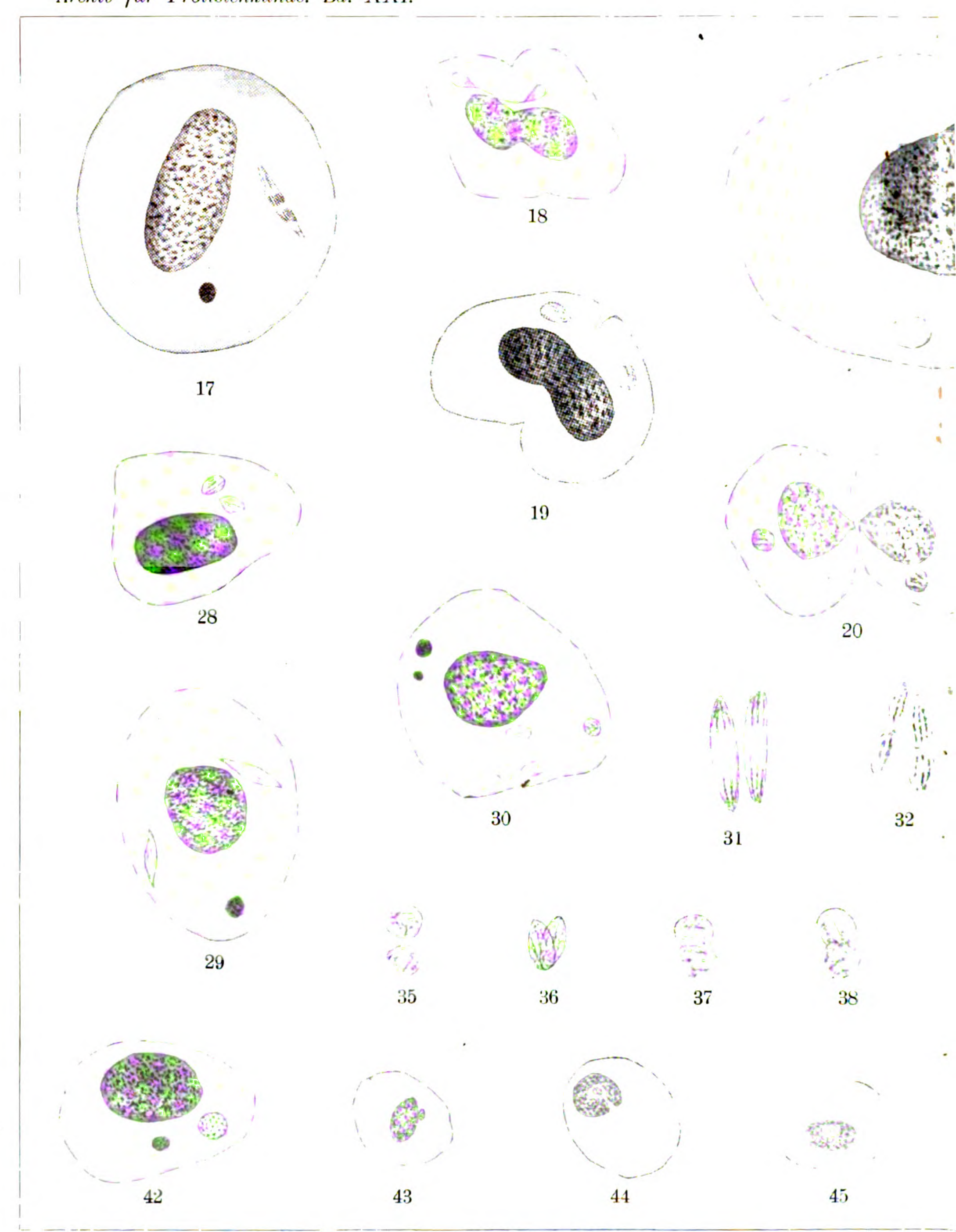


Buschkiel.

Verlag von Gustav

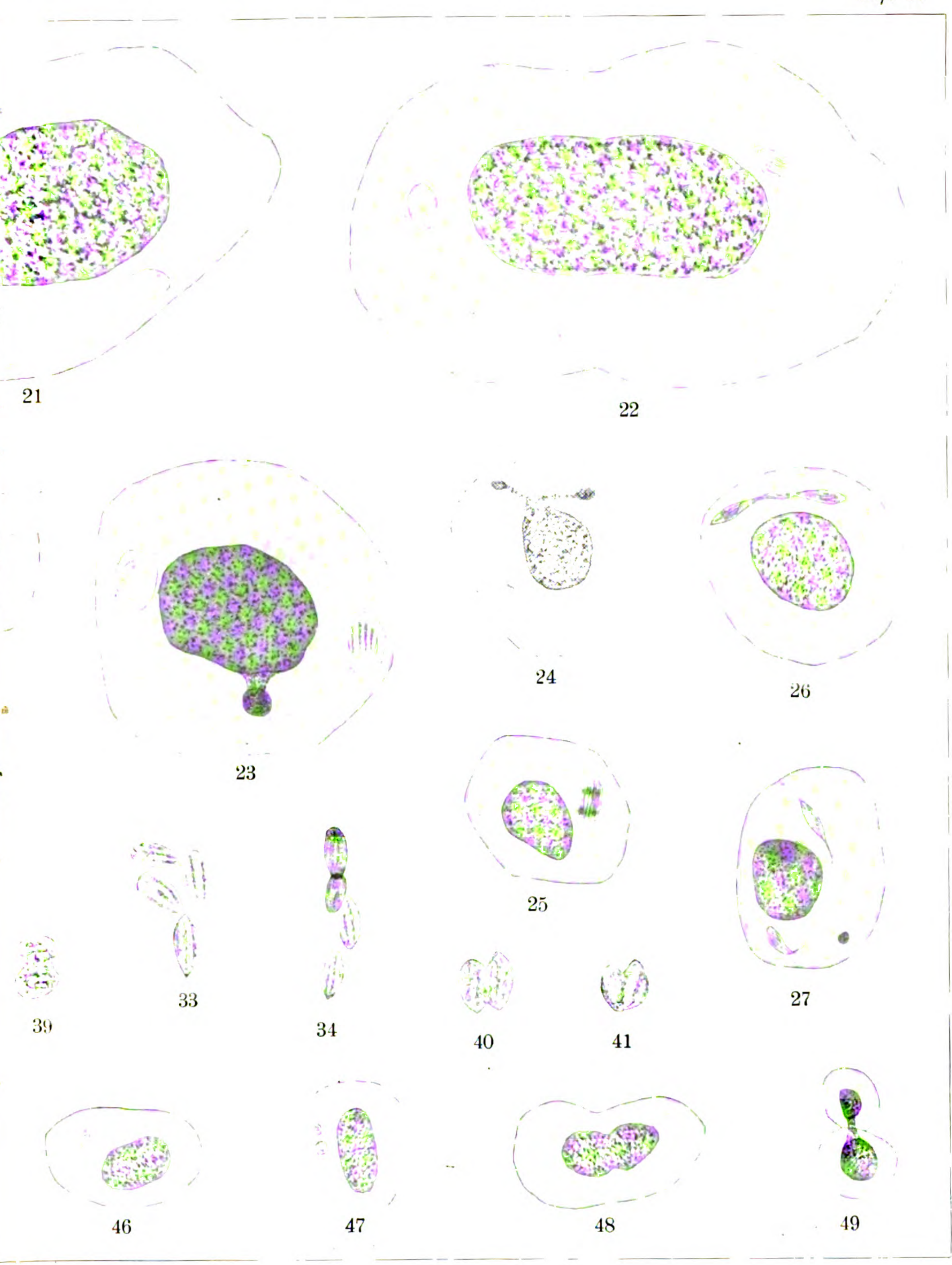


Fischer in Jena.

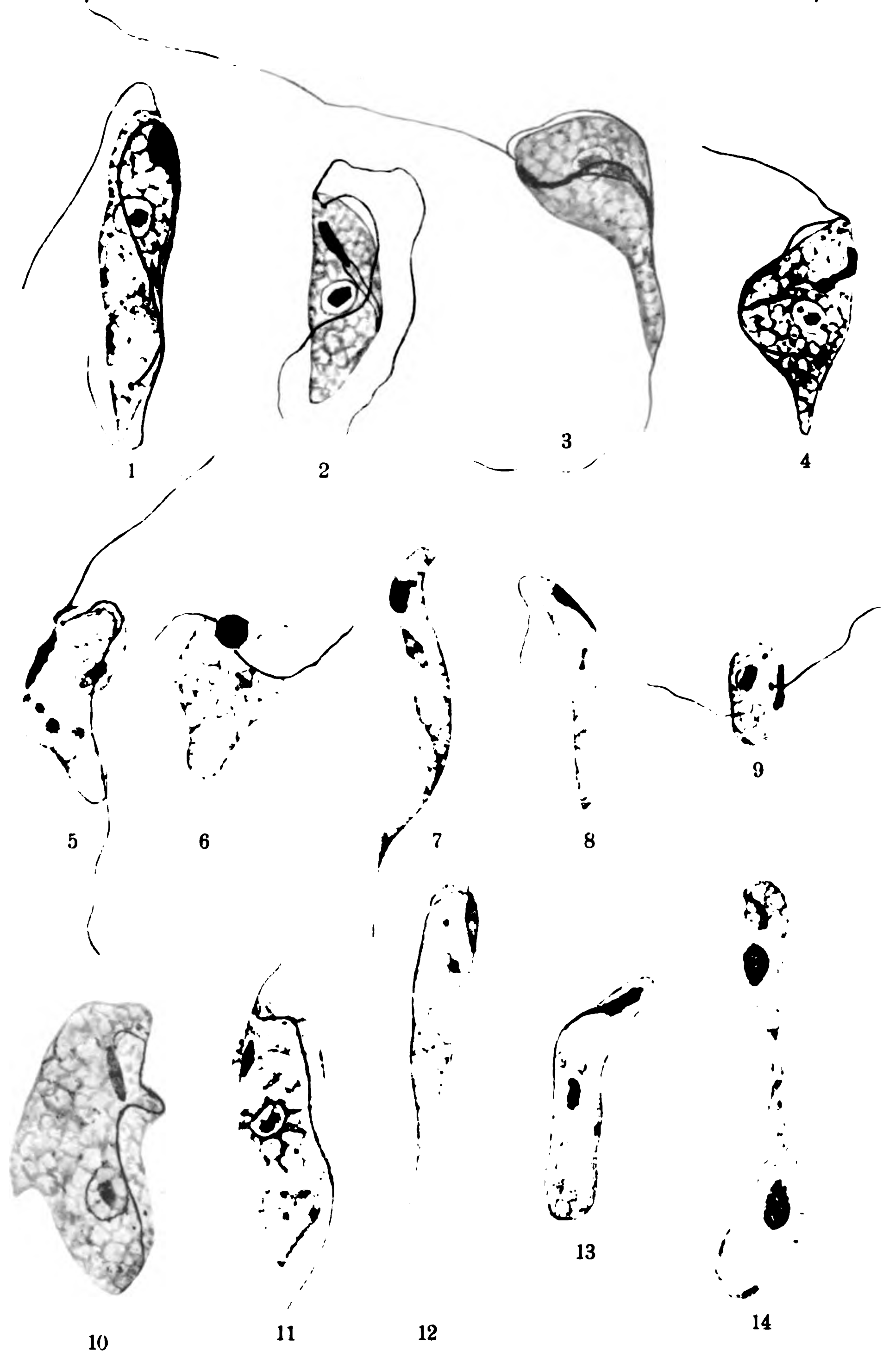


Buschkiel.

Verlag von Gustav

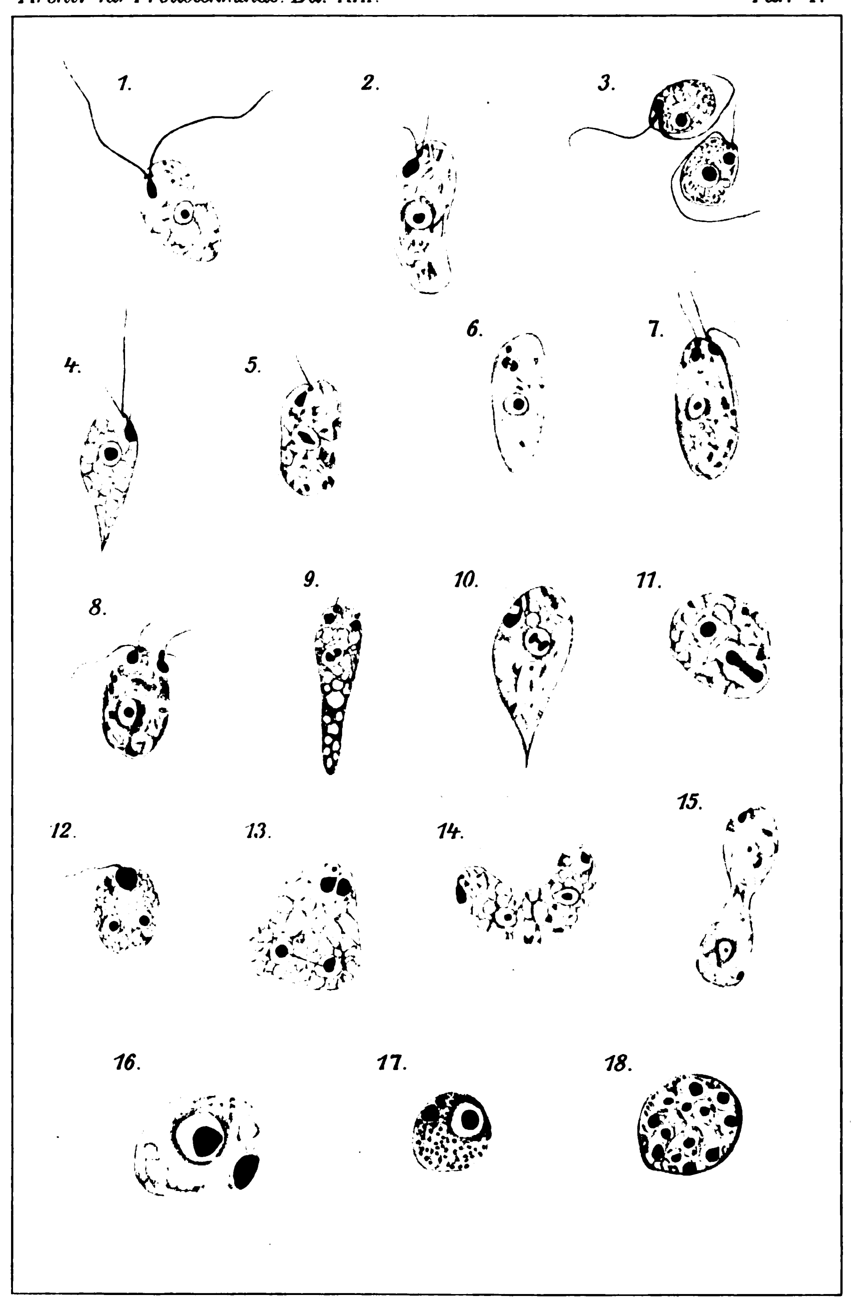


Fischer in Jena.

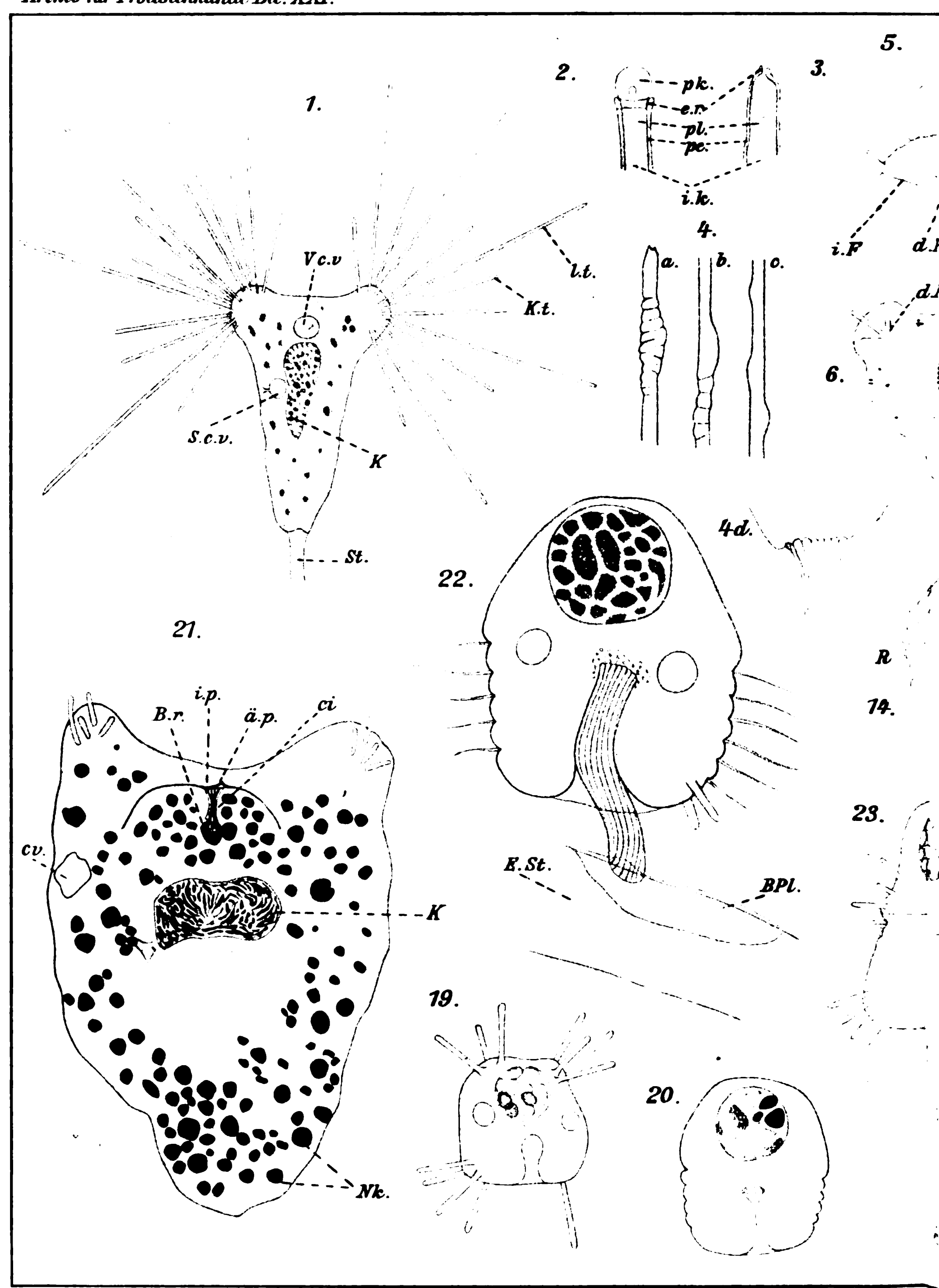


Trypanoplasma helicis.

Jollos.

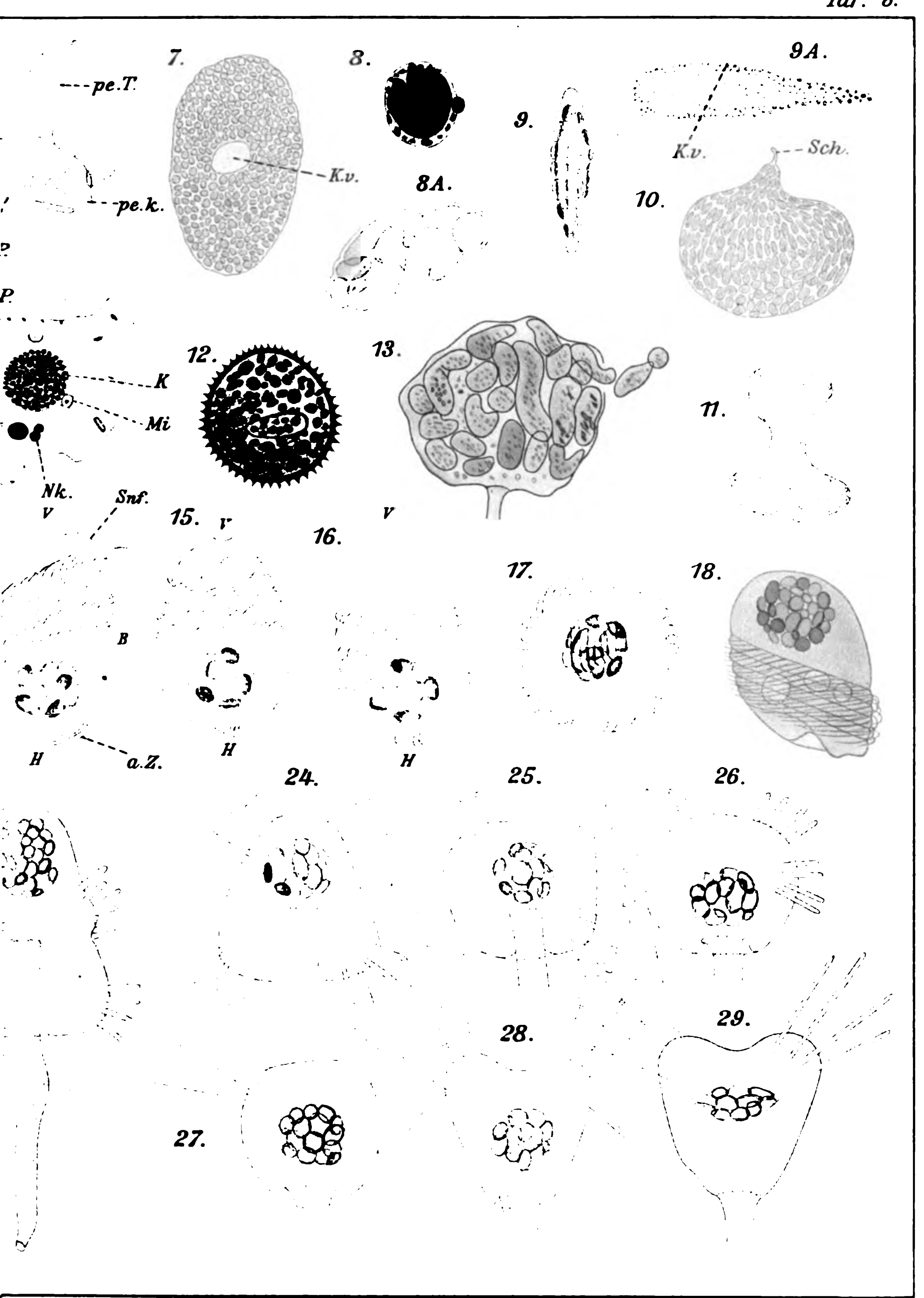


Nägler gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



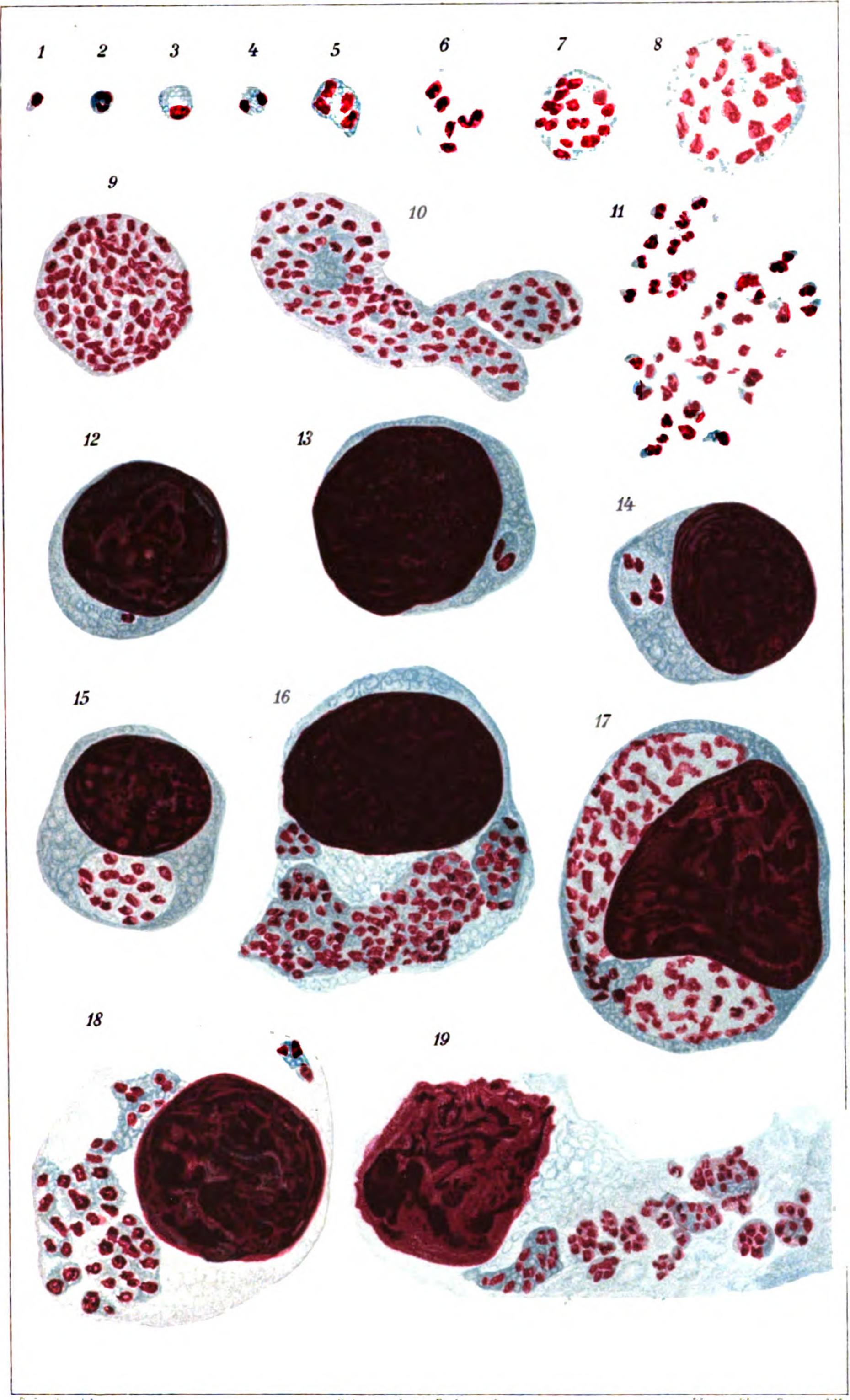
J. Filipjev gez.

Verlag von Gustav F

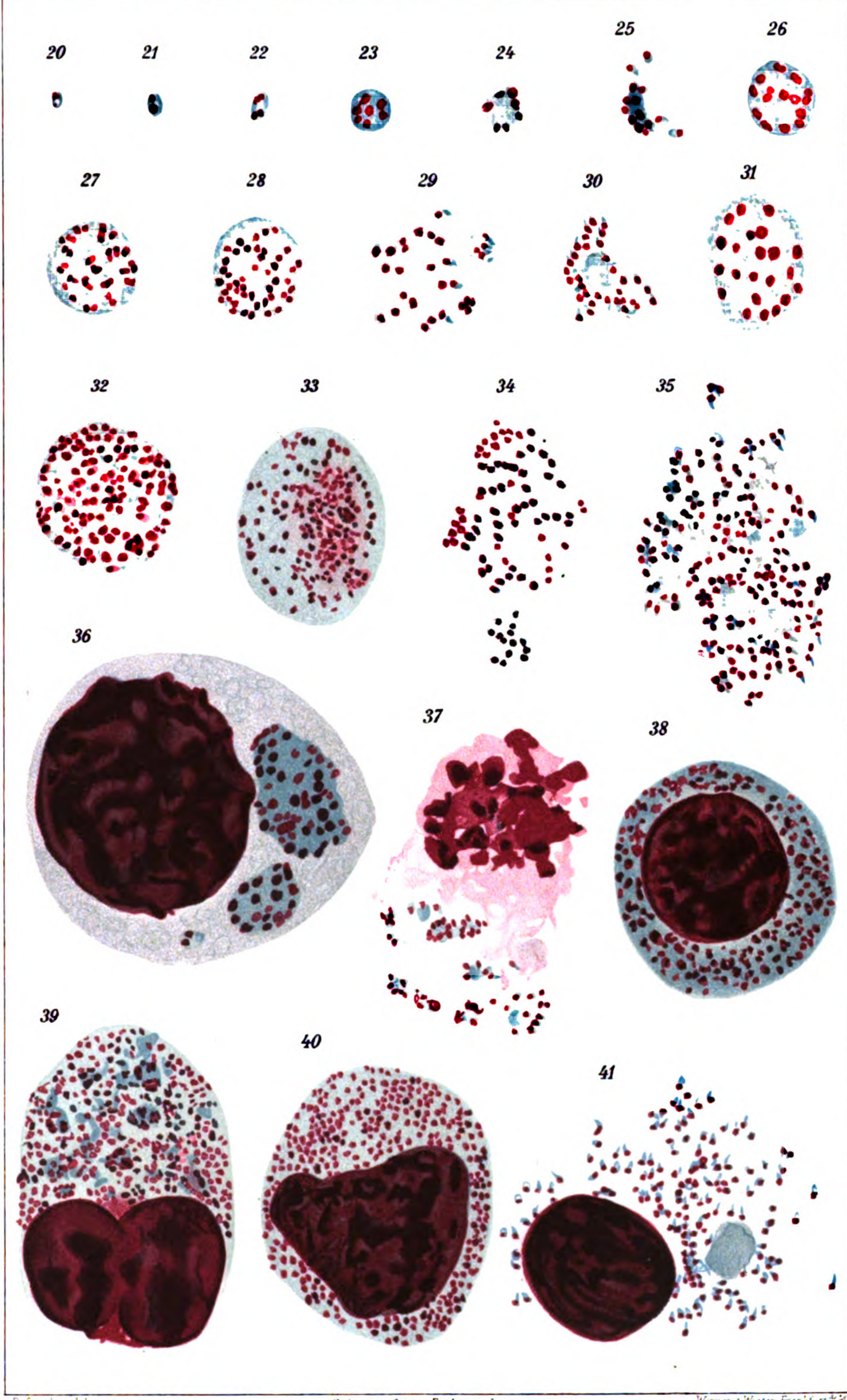


Fischer in Jena.

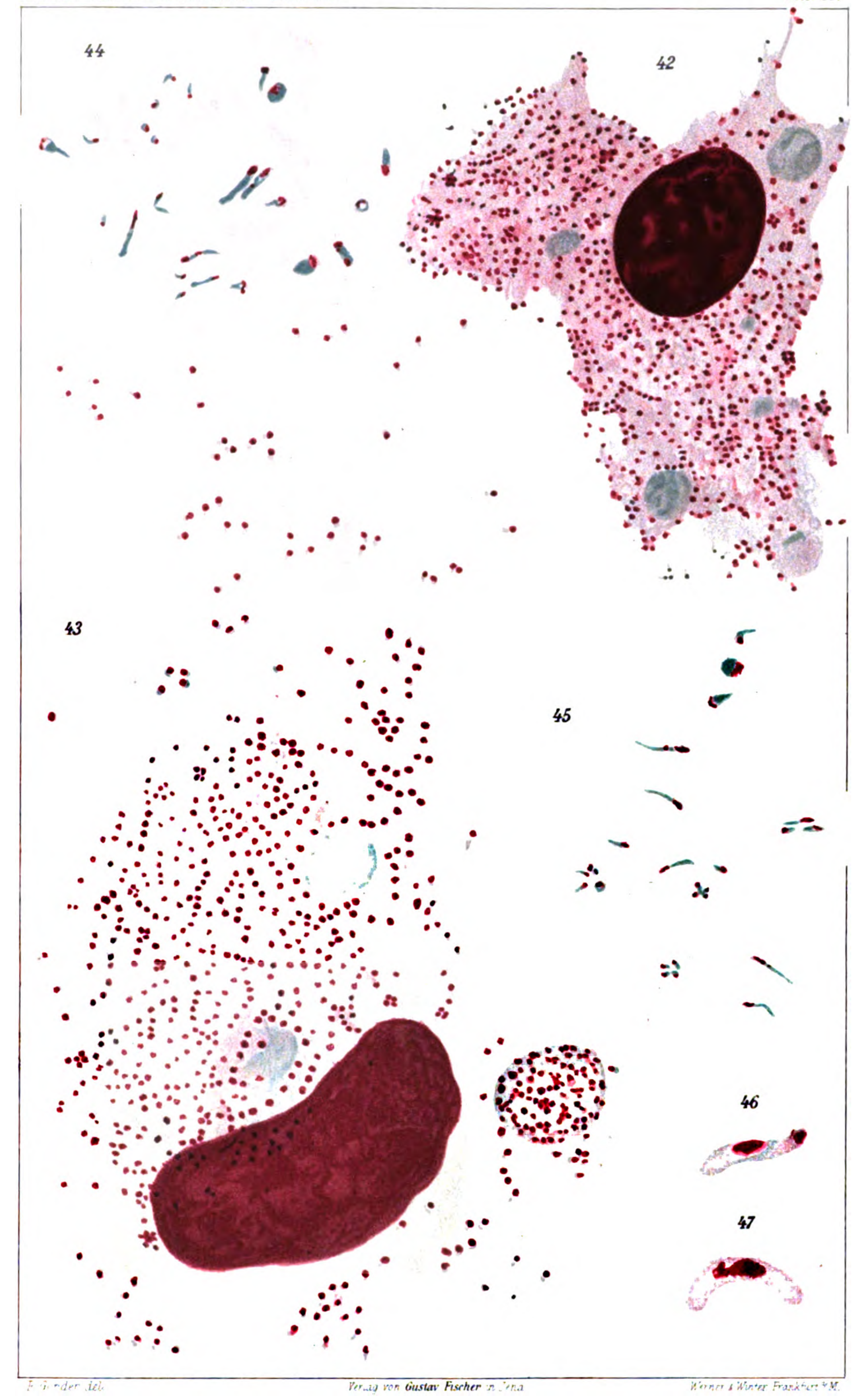
F. Weise, Lith. Jena.



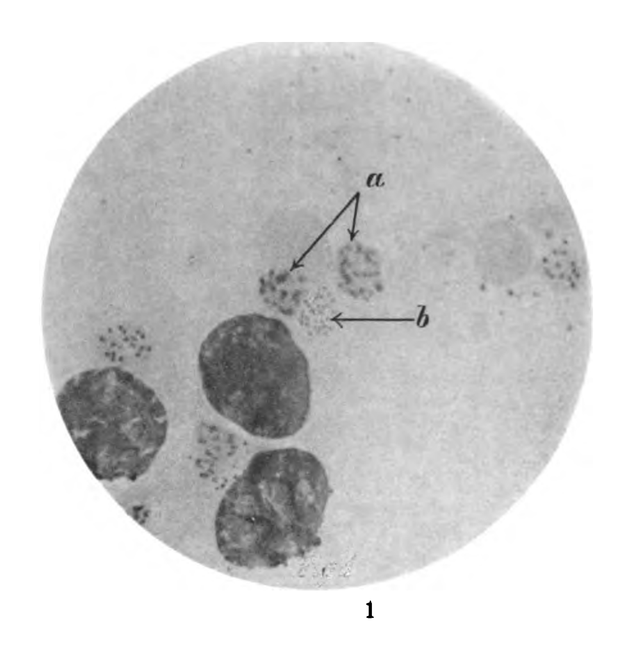
R. Gonder del. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Werner & Winter Frankfurt a. M.



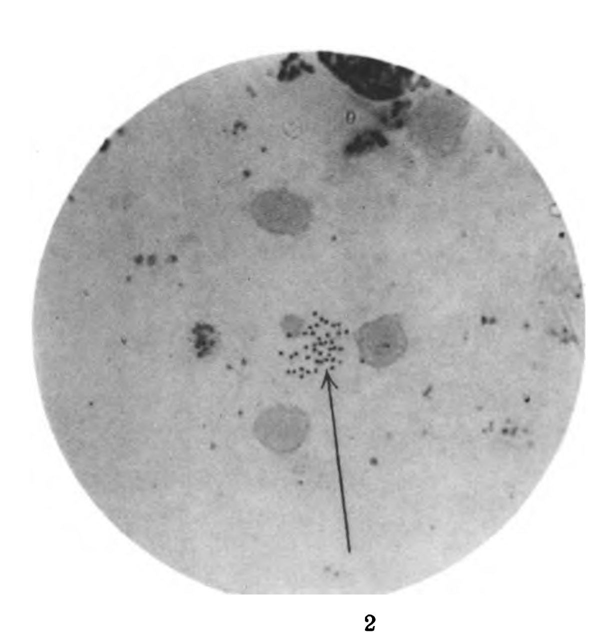
R. Gonder del. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Werner & Winter, Frankfurt a/M.



F. Linder del. Verlag von Gustav Fischer in Jena Werner & Winter, Frankfurt a/M.



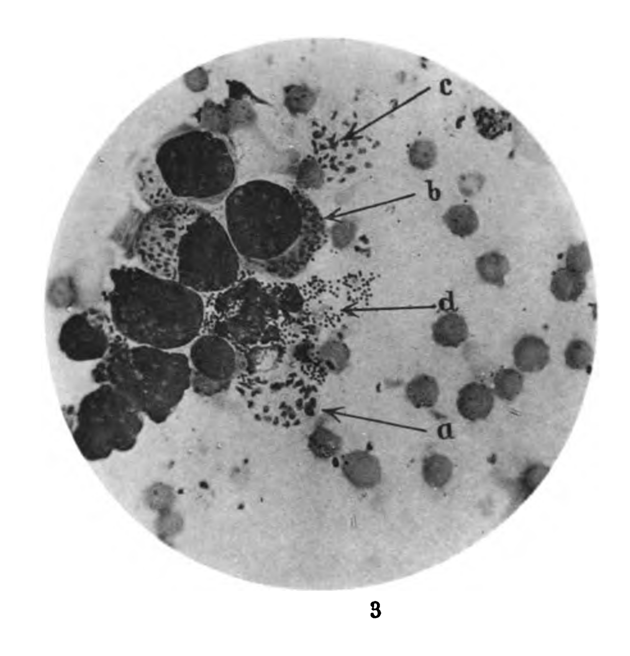
1



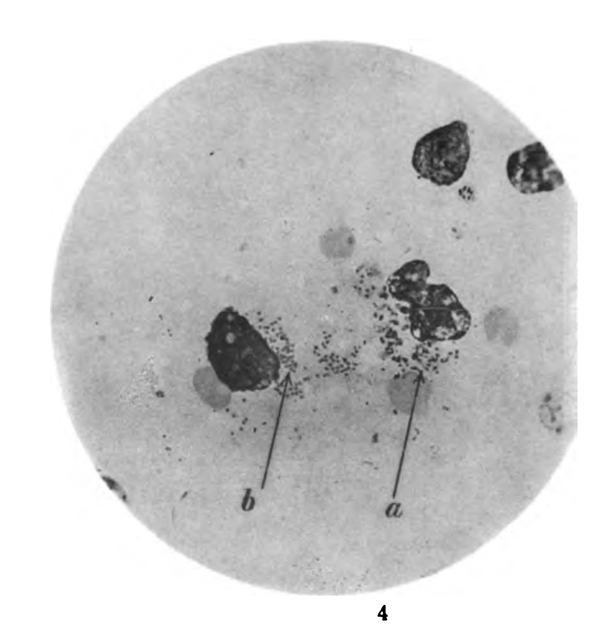
2

Gonder.

Verlag von Gustav

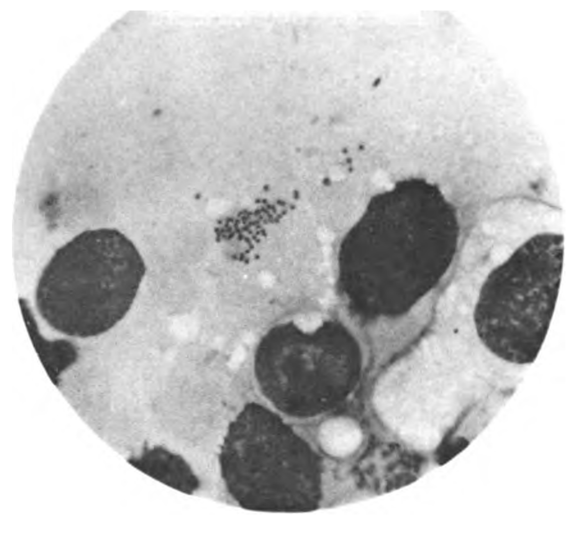


3

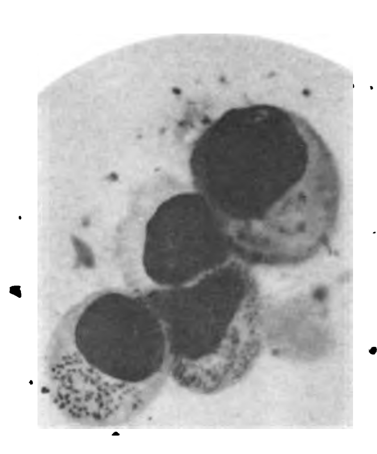


4

Fischer in Jena.



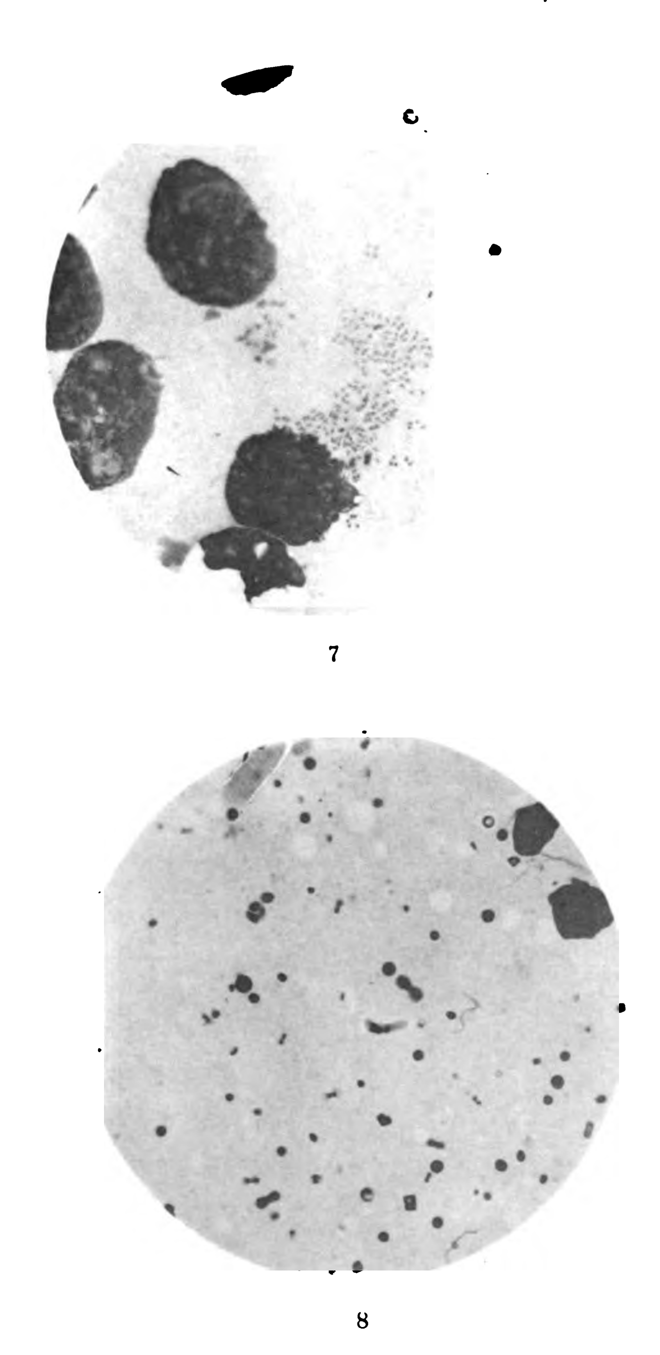
5



6

Gonder.

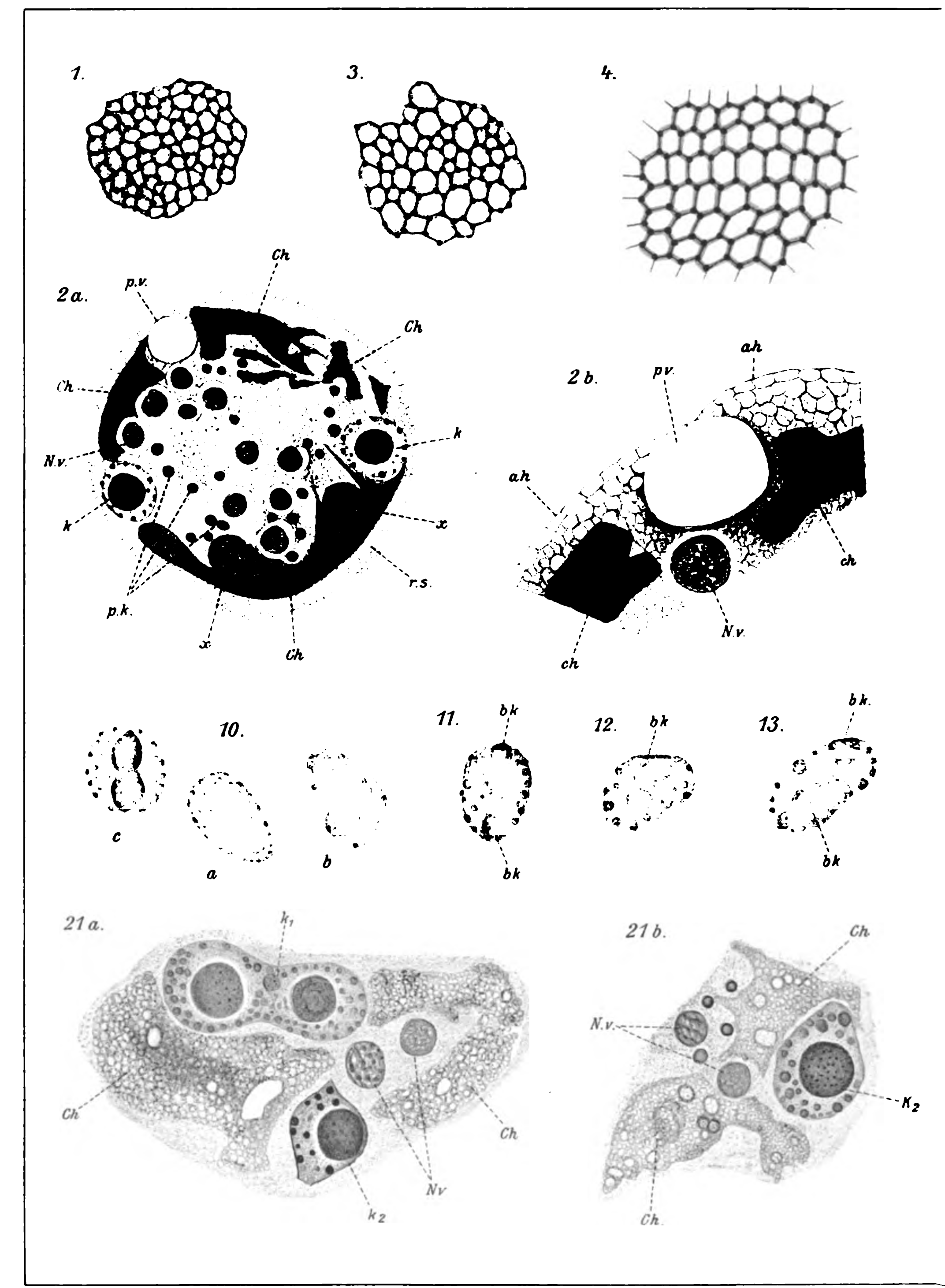
Verlag von Gustav Fi



7

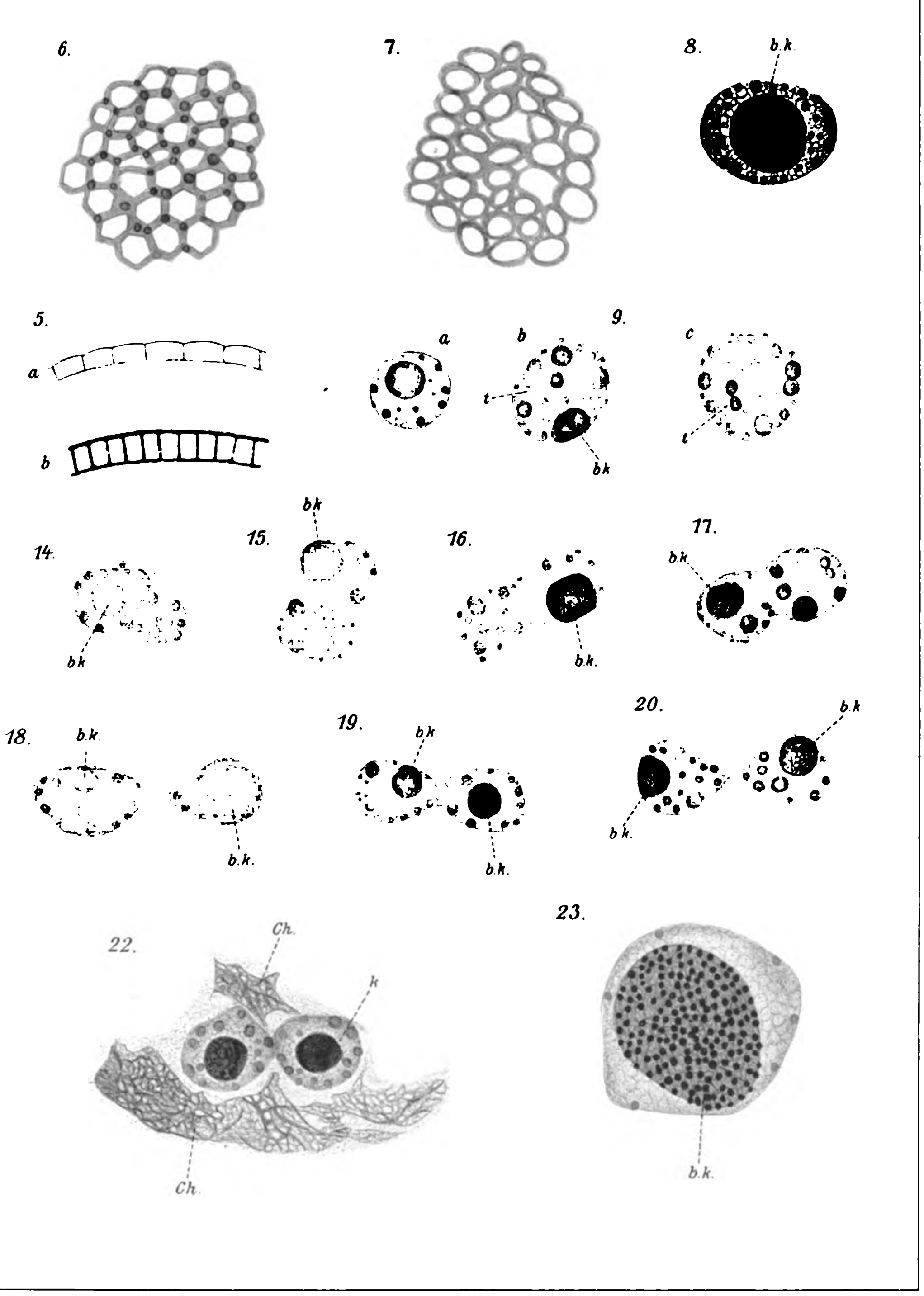
8

Fischer in Jena.



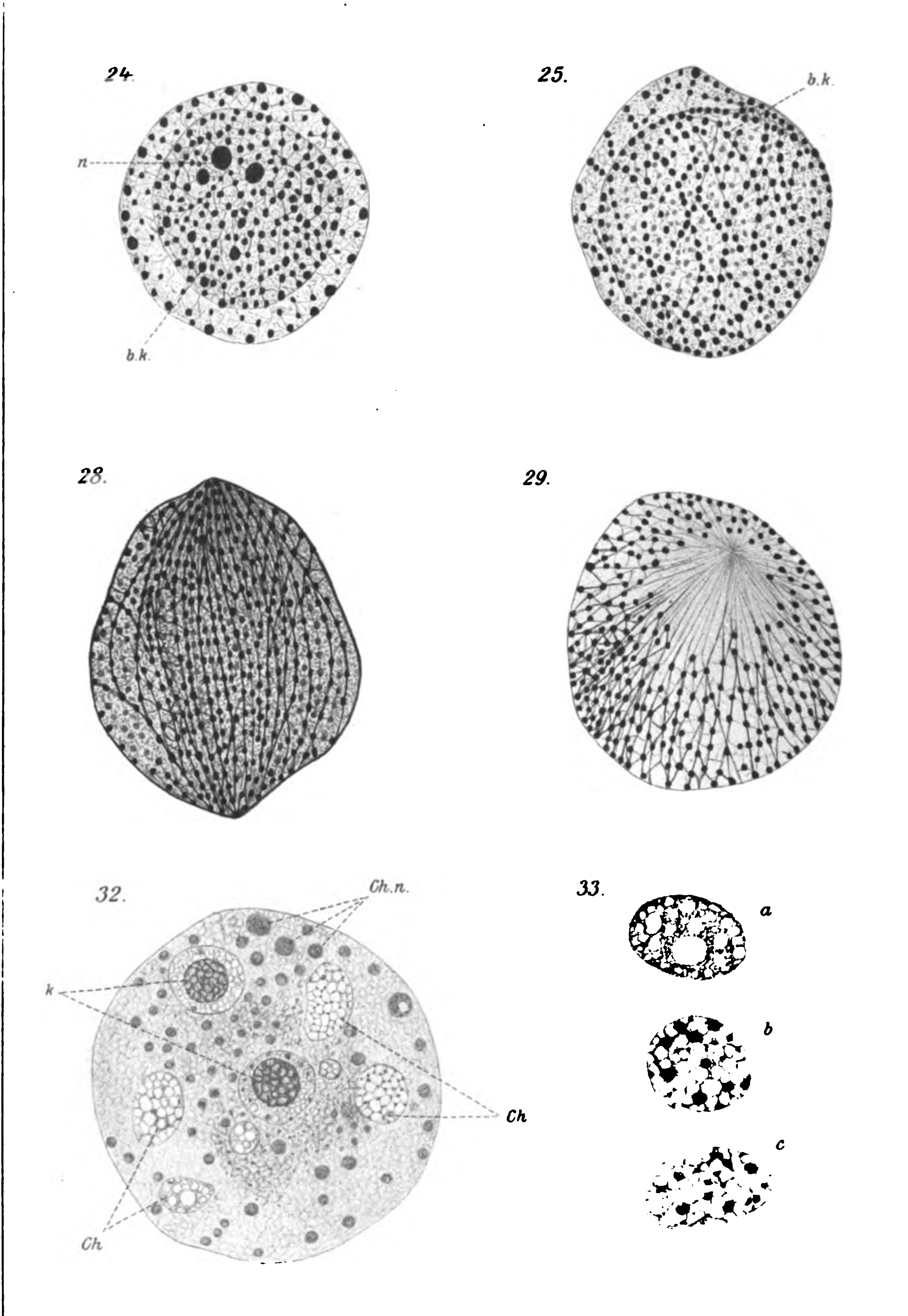
Khainsky gez.

Verlag von Gustav Fi[scher]

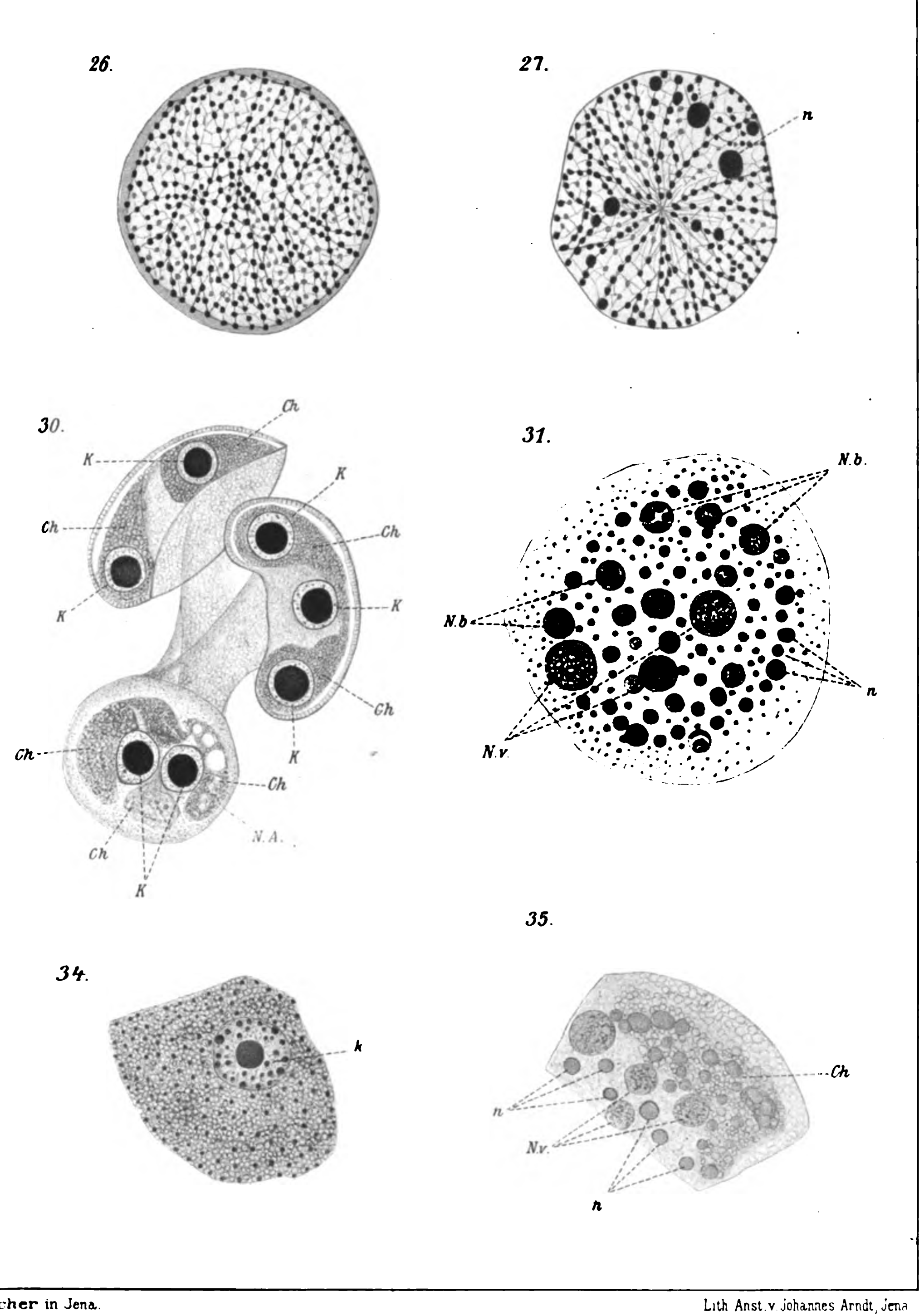


scher in Jena.

Lith. Anst v Johannes Arndt, Jena.

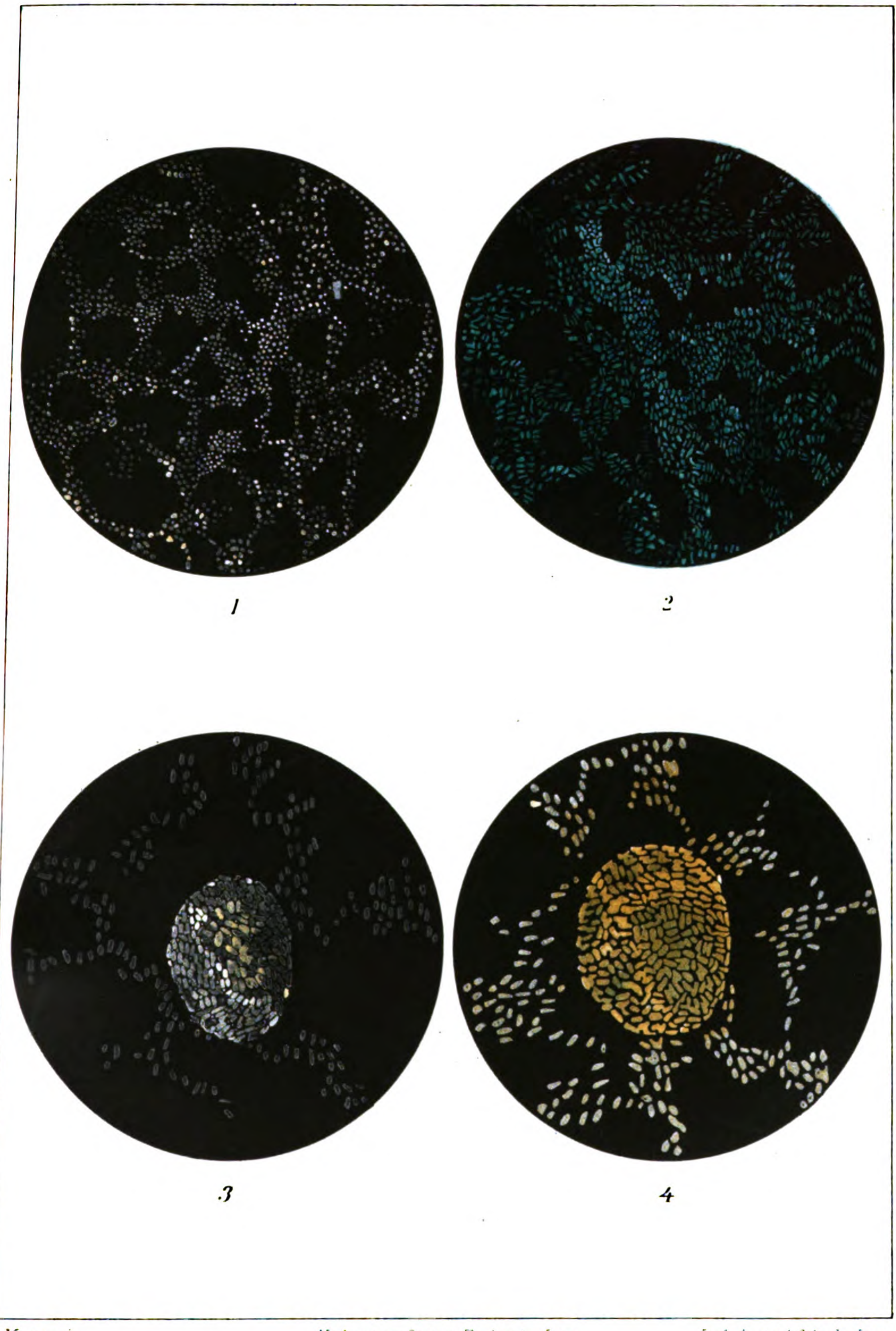


Khainsky gez.
Verlag von Gustav

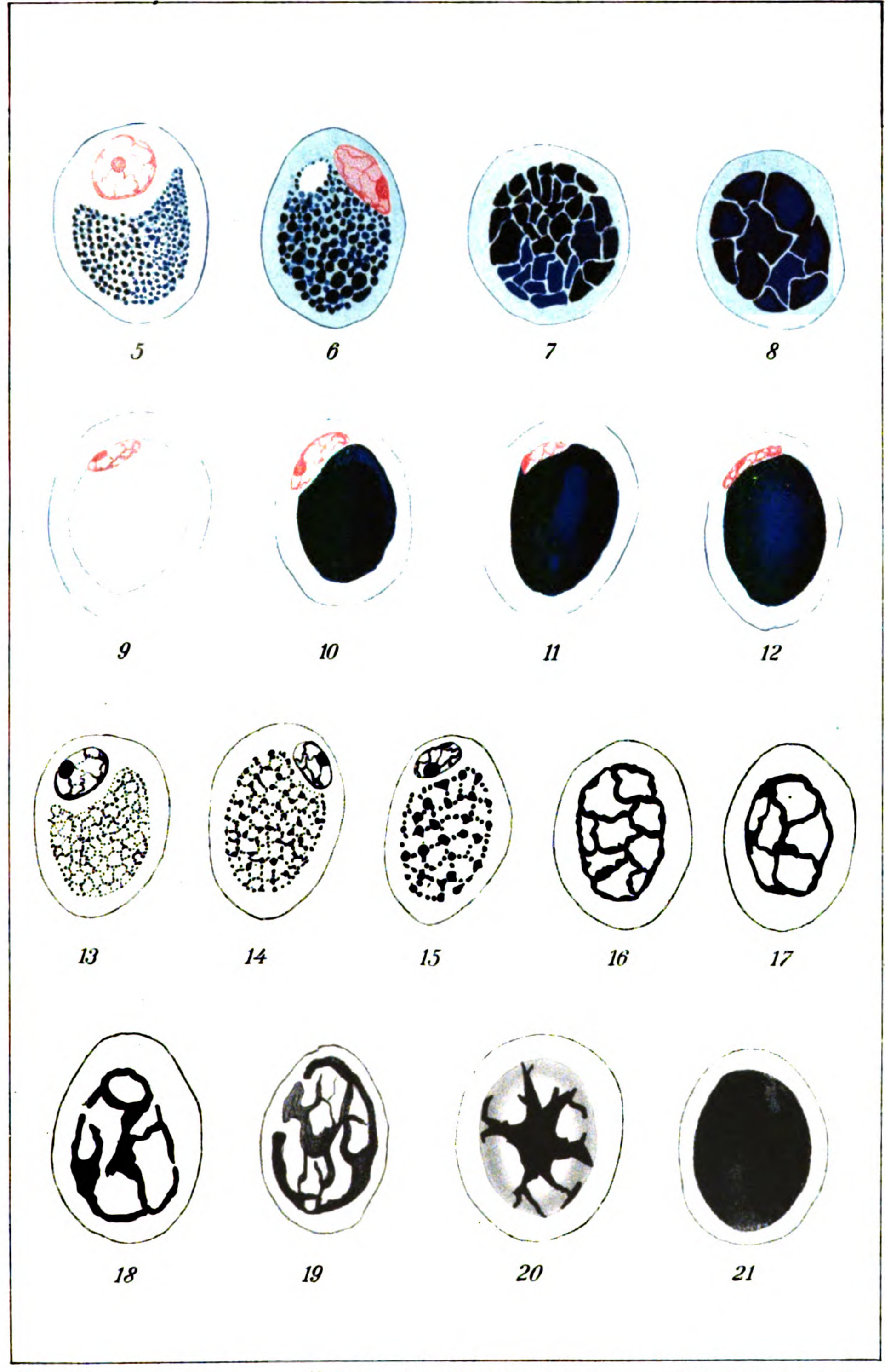


scher in Jena.

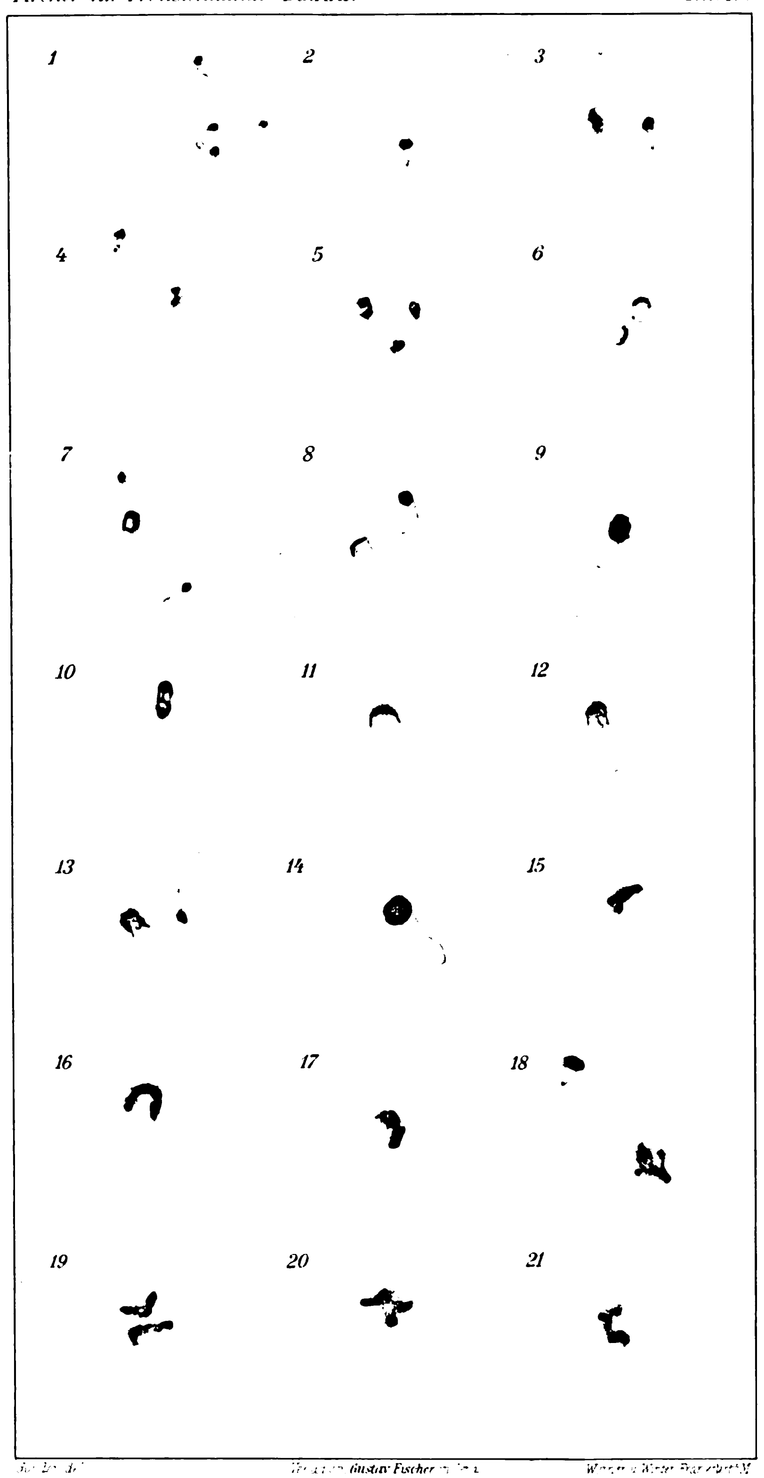
Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena



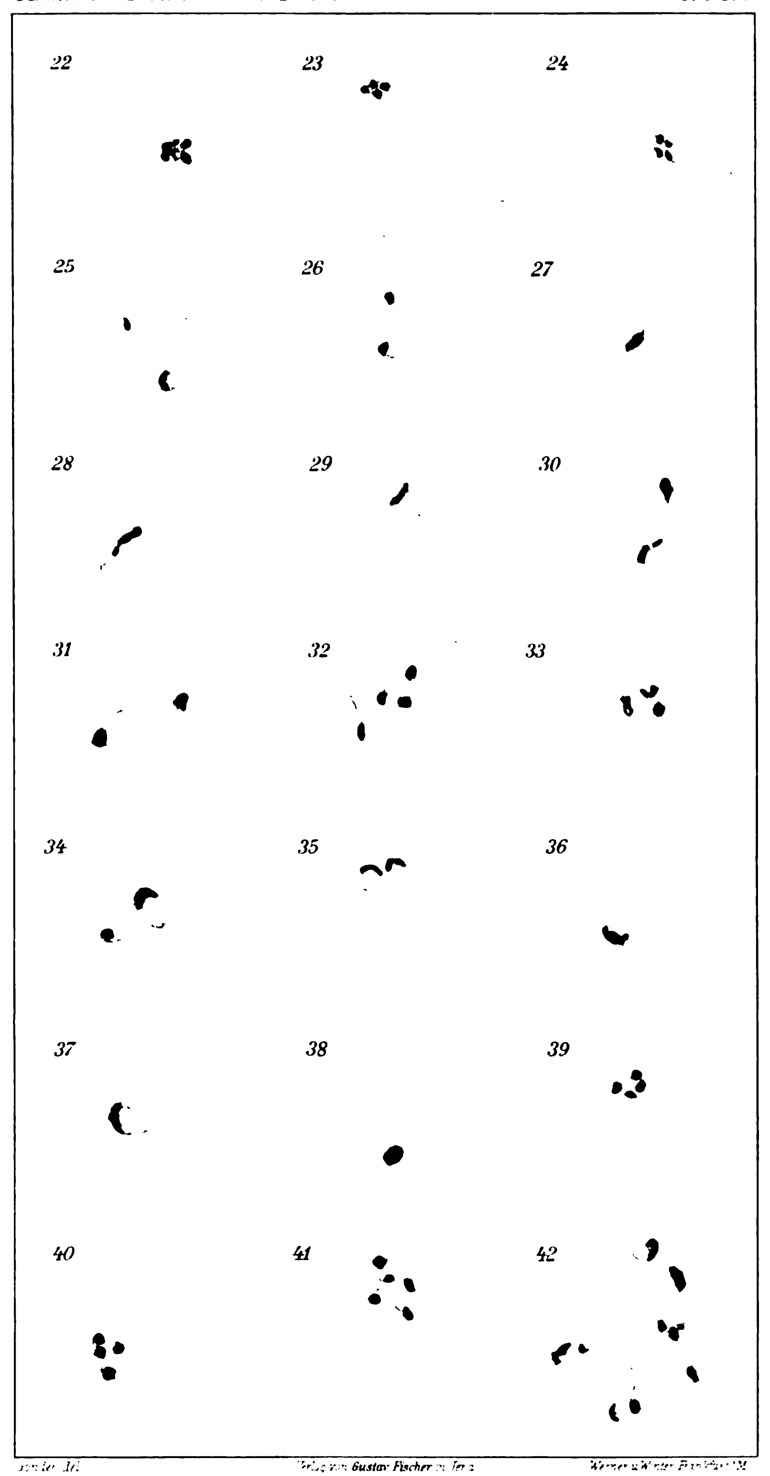
Mariani Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith Anst v A Giltsch, Jena



Mariani Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith Anst v A Giltsch, Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena



Gustav Fischer

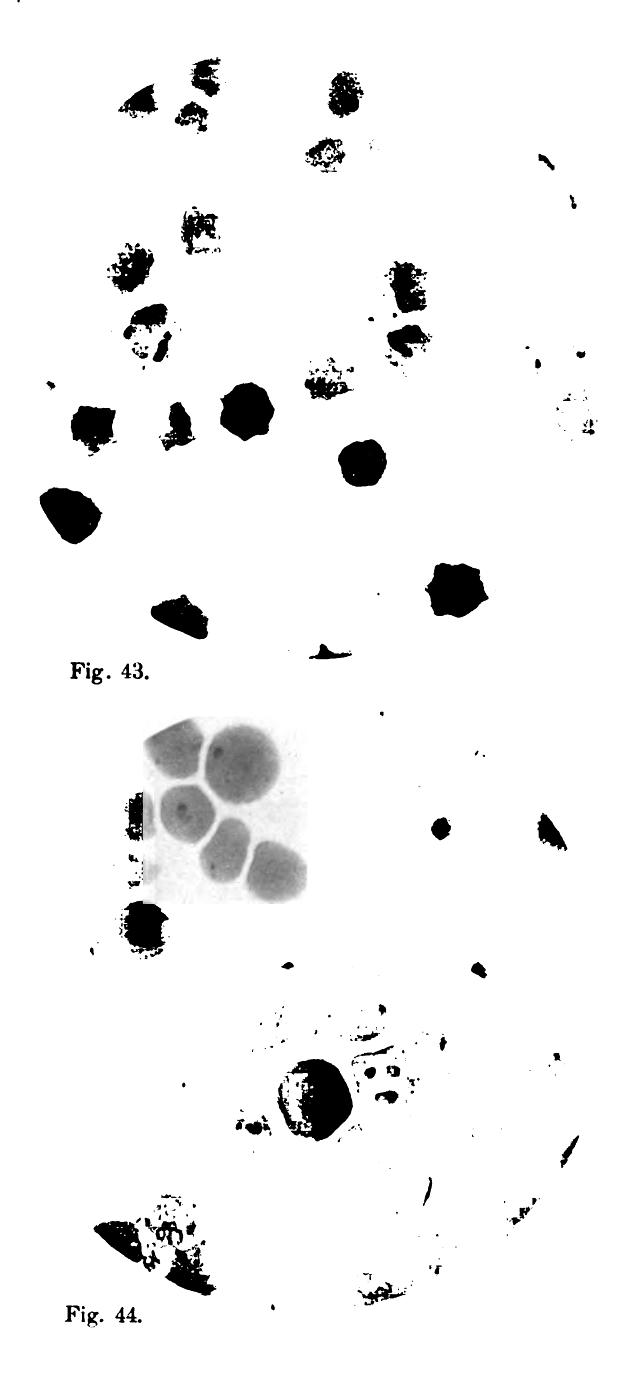


Fig. 43.

Fig. 44.

R. Gonder phot.

Verlag von Gusta[v

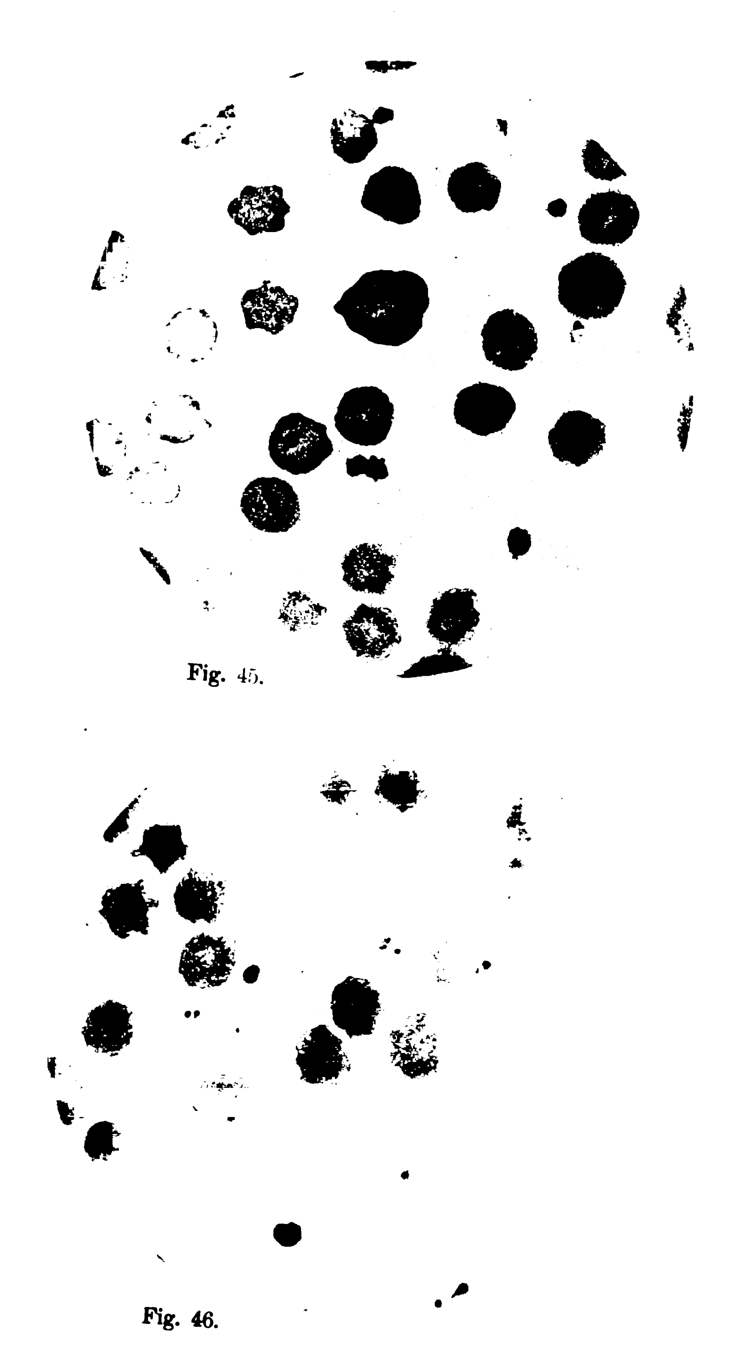


Fig. 45.

Fig. 46.

Fischer in Jena.

J. B. Obernetter, München.

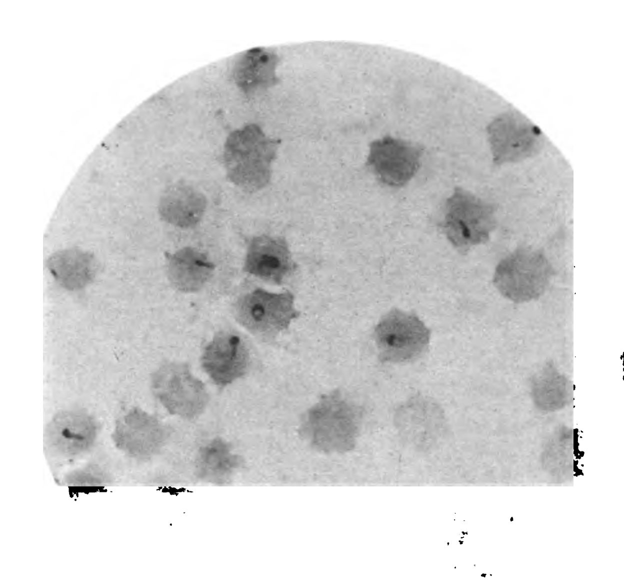


Fig. 47.

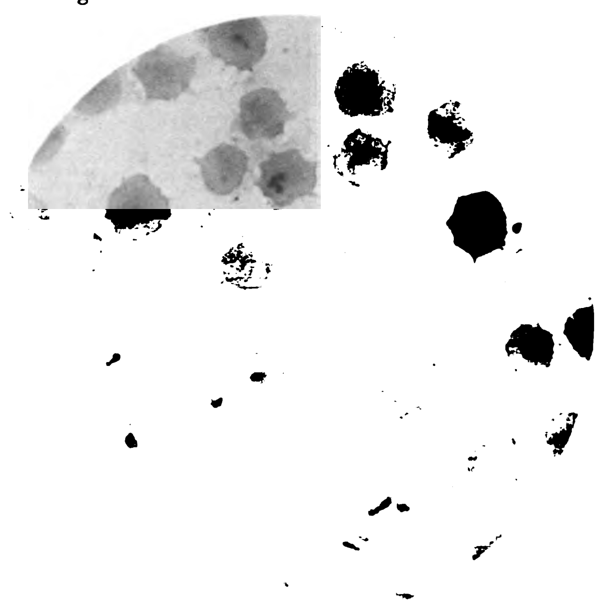


Fig. 48.

R. Gonder phot.

Verlag von Gustav

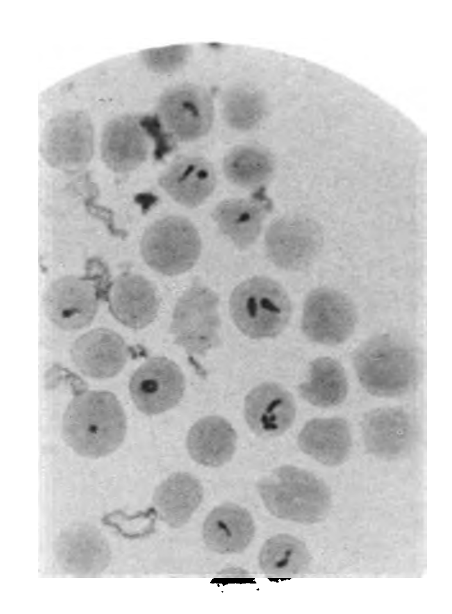


Fig. 49.

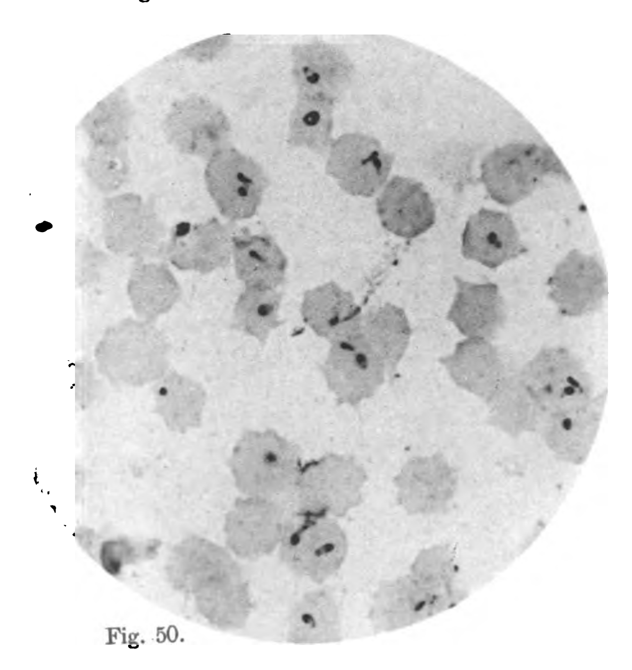
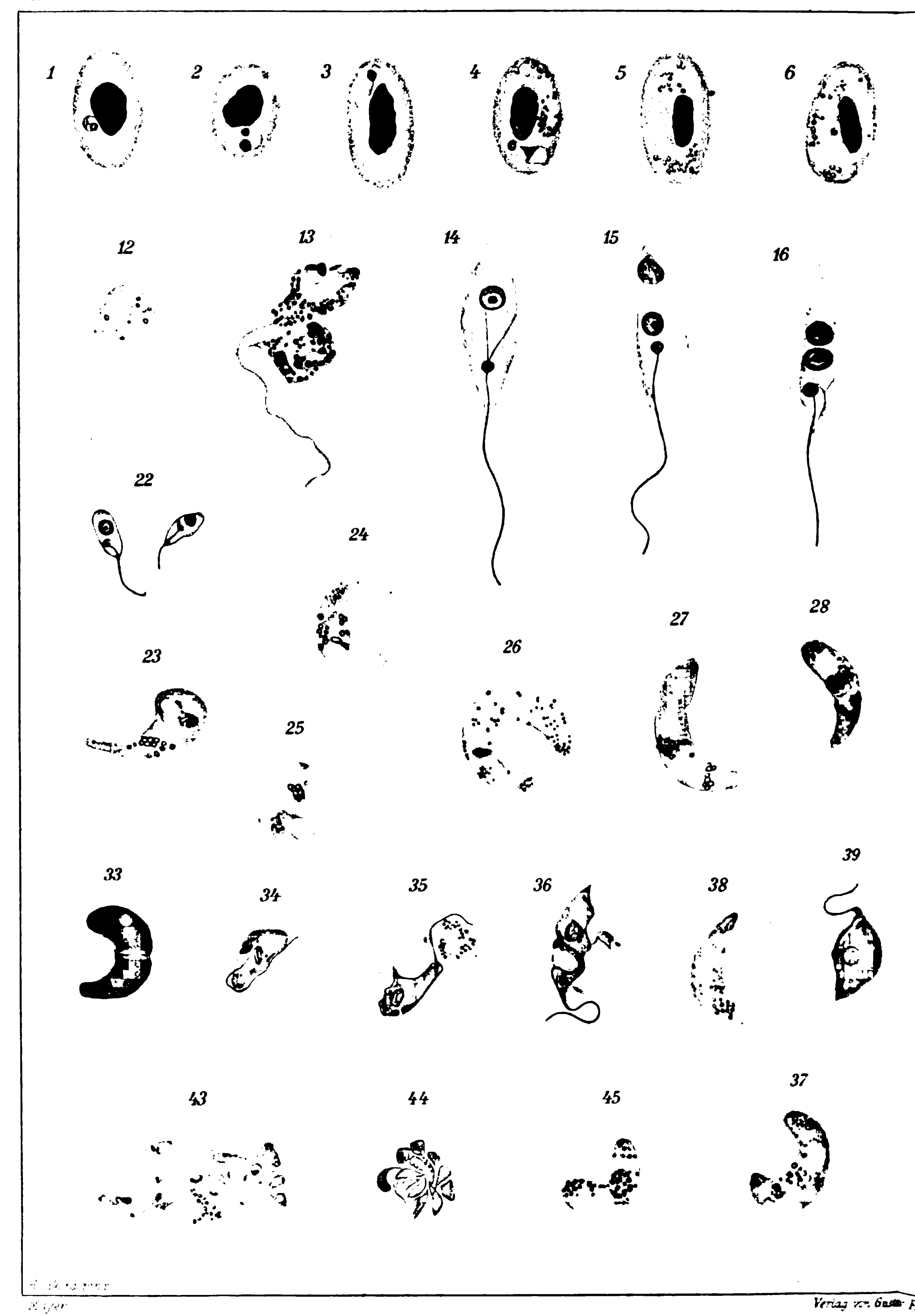


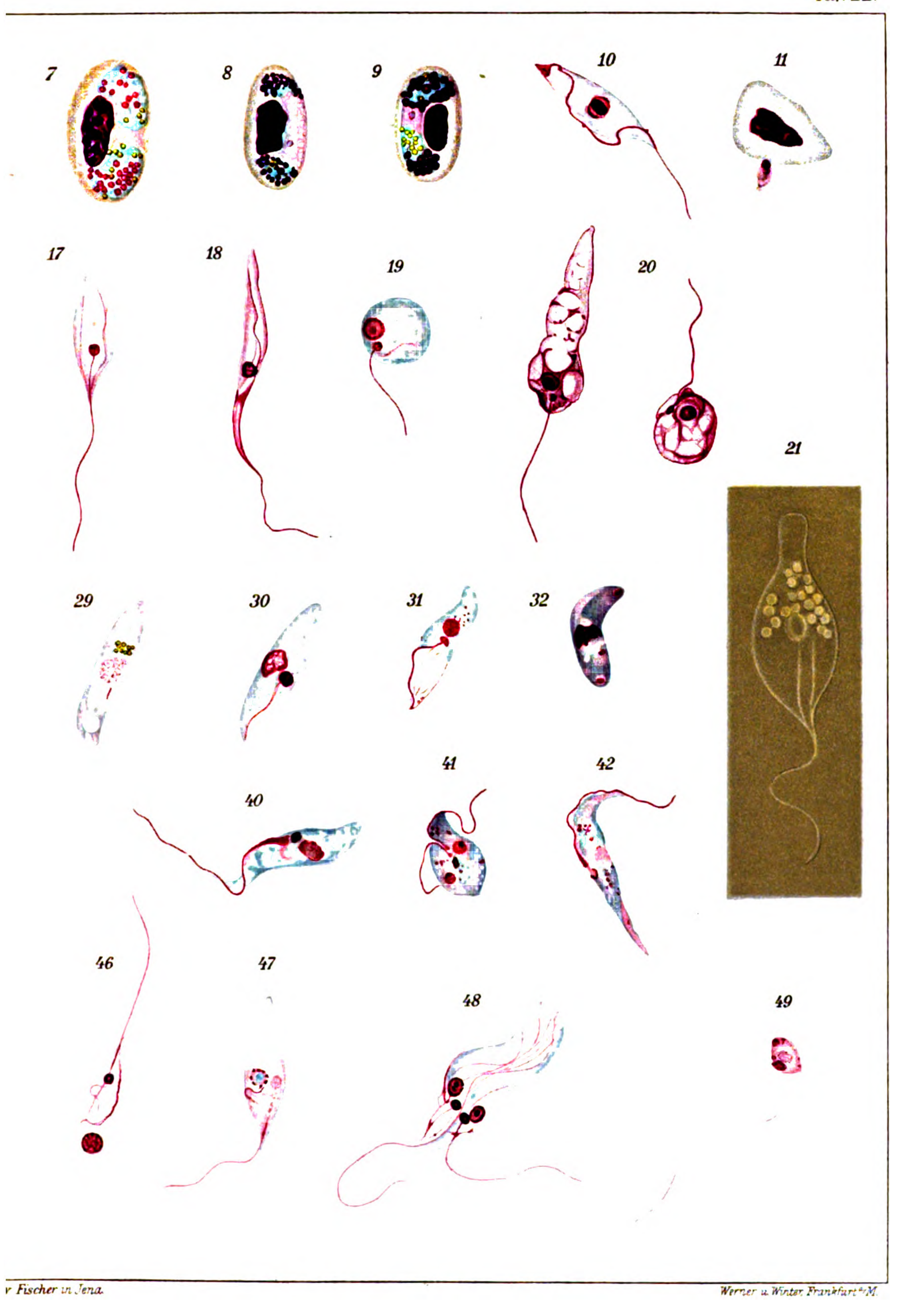
Fig. 50.

J. B. Obernetter, München.

Fischer in Jena.

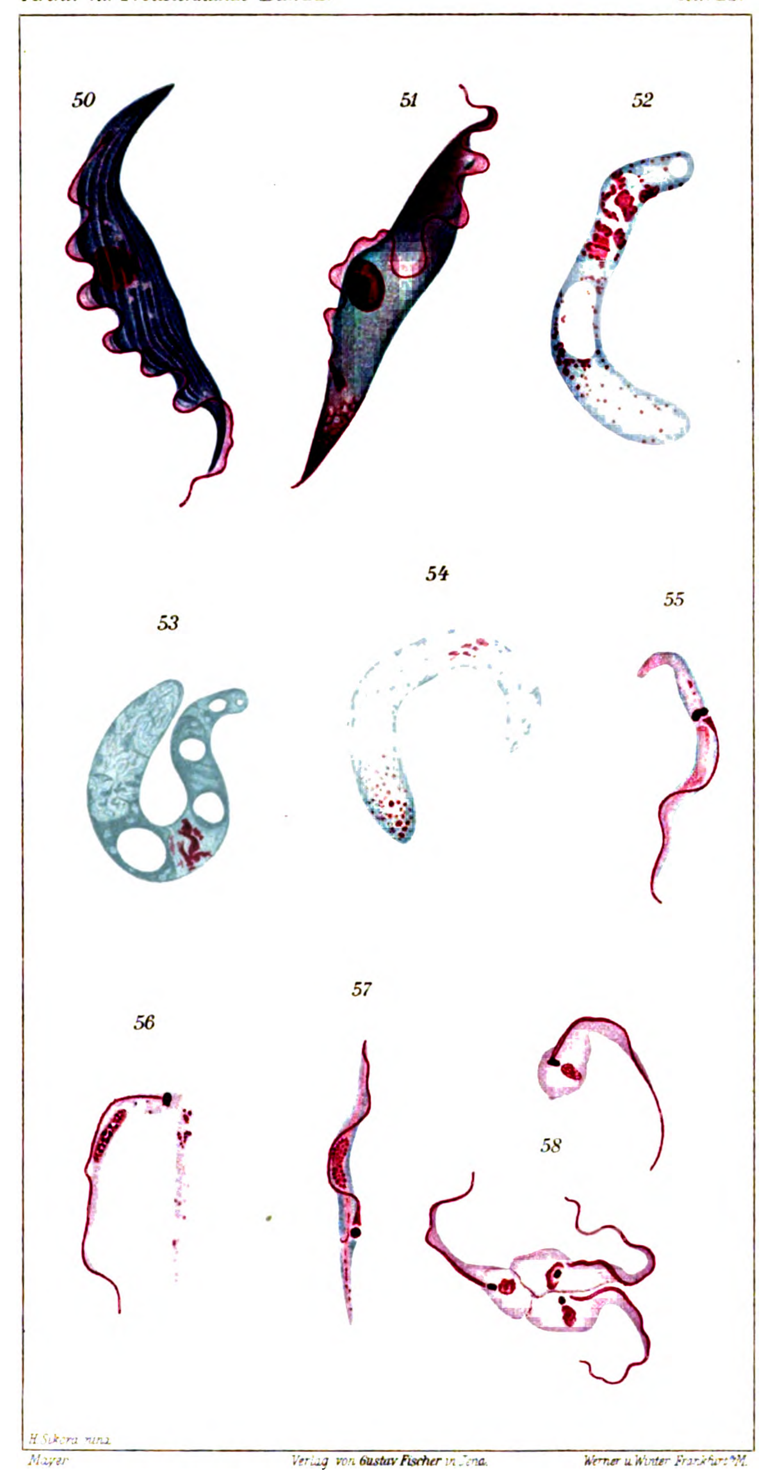


Verlag von Gustav F

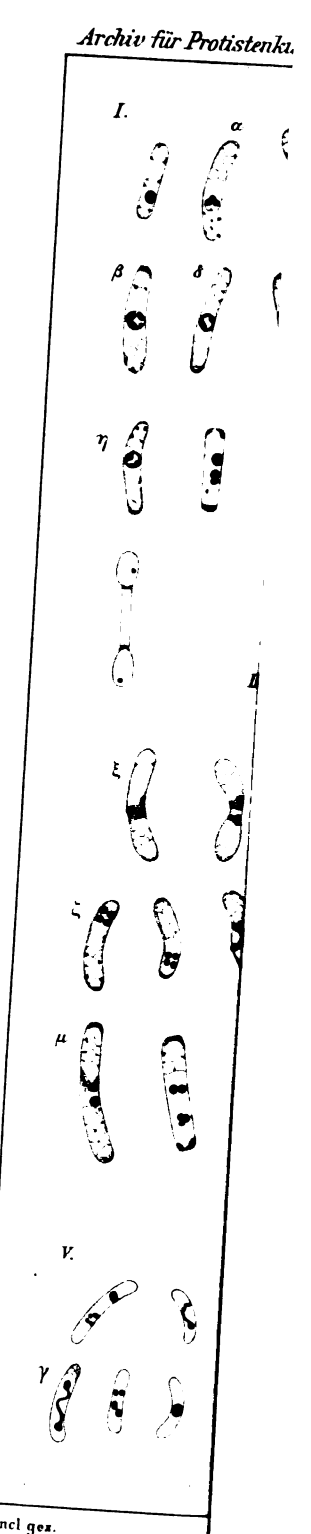


v Fischer in Jena.

Werner u. Winter, Frankfurt a/M.



Mayer Verlag von Gustav Fischer in Jena. Werner u. Winter, Frankfurt ªM.



Mencl gez.

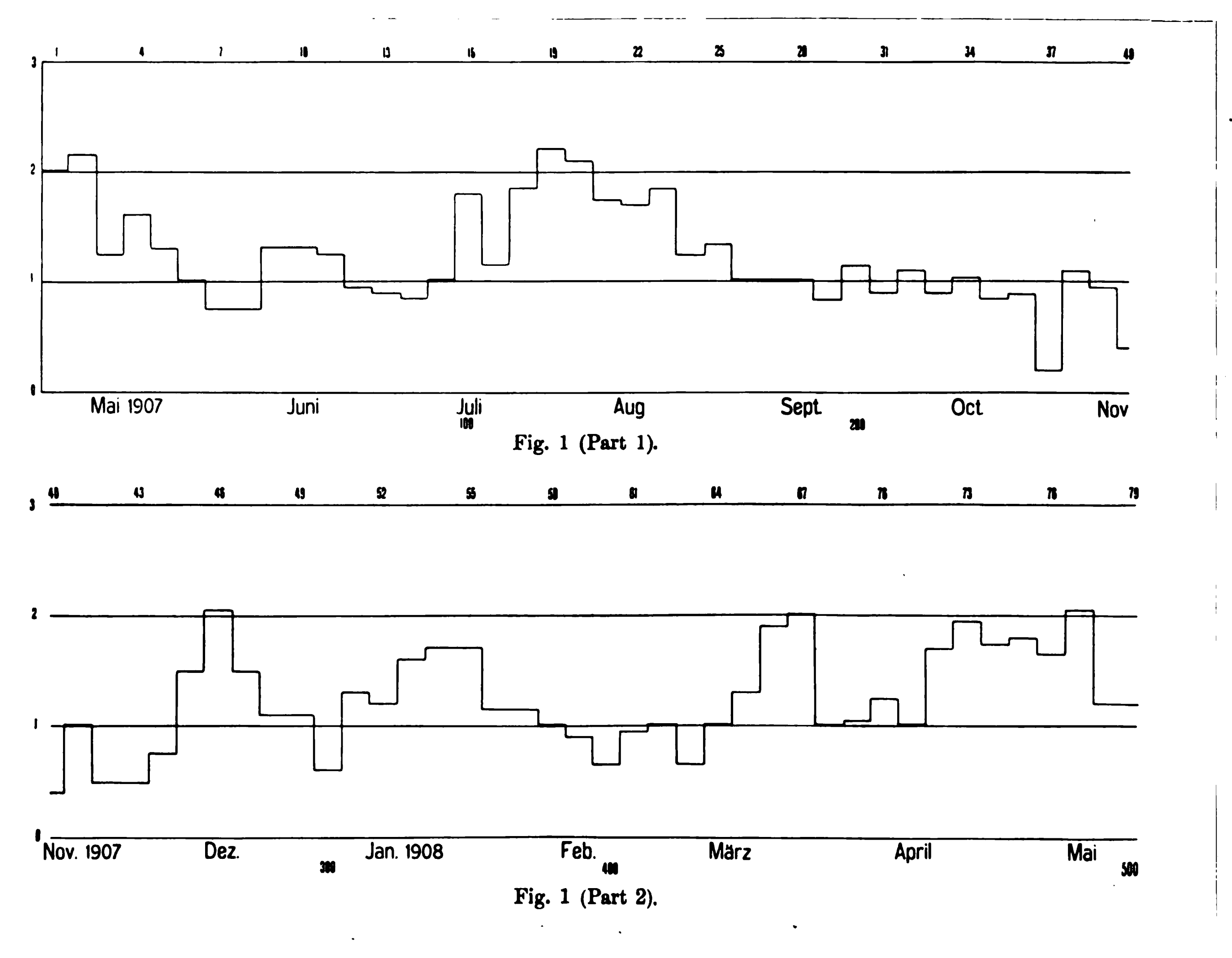


Fig. 1 (Part 1).

Fig. 1 (Part 2).

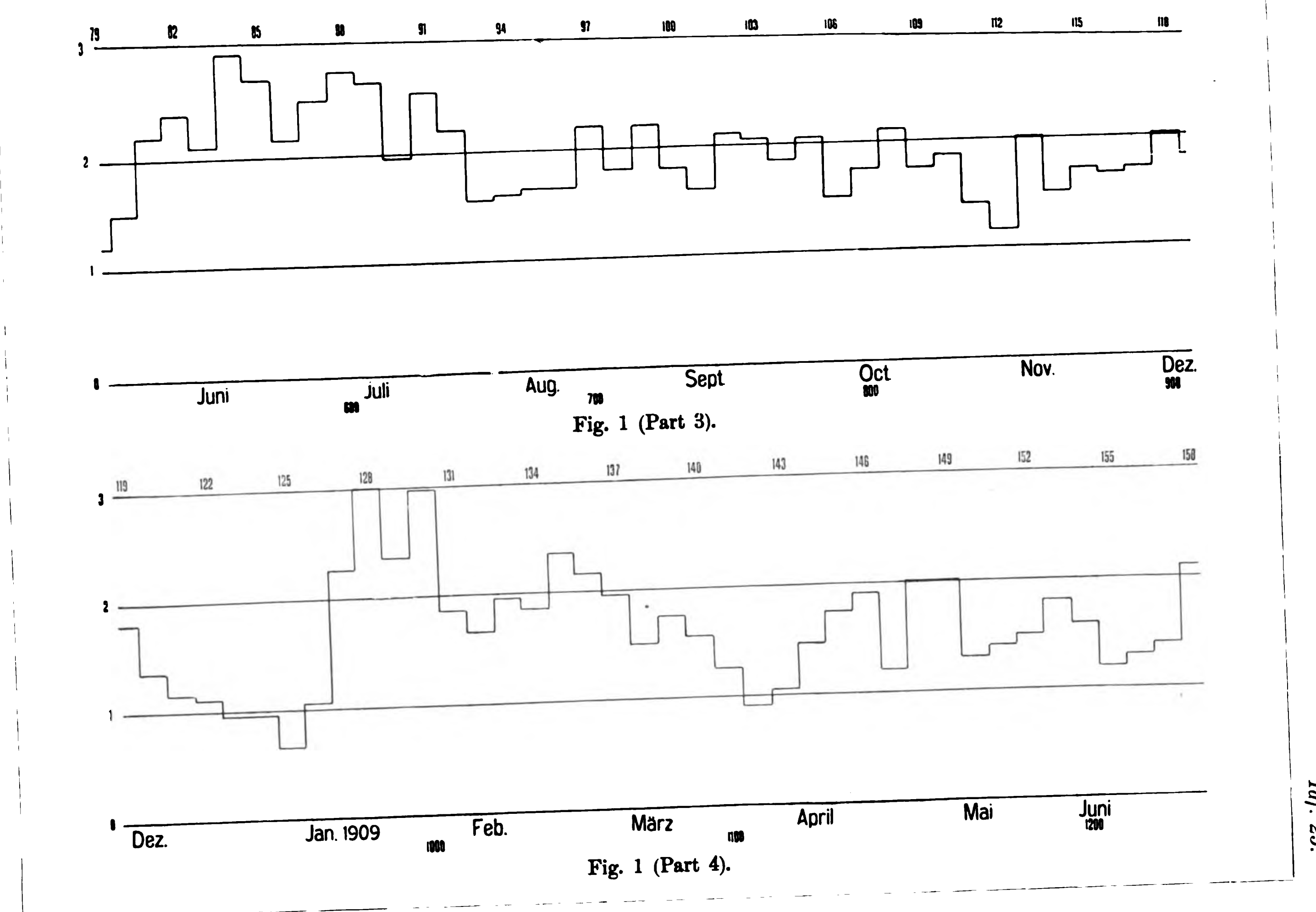


Fig. 1 (Part 3).

Fig. 1 (Part 4).

Fischer in Jena.

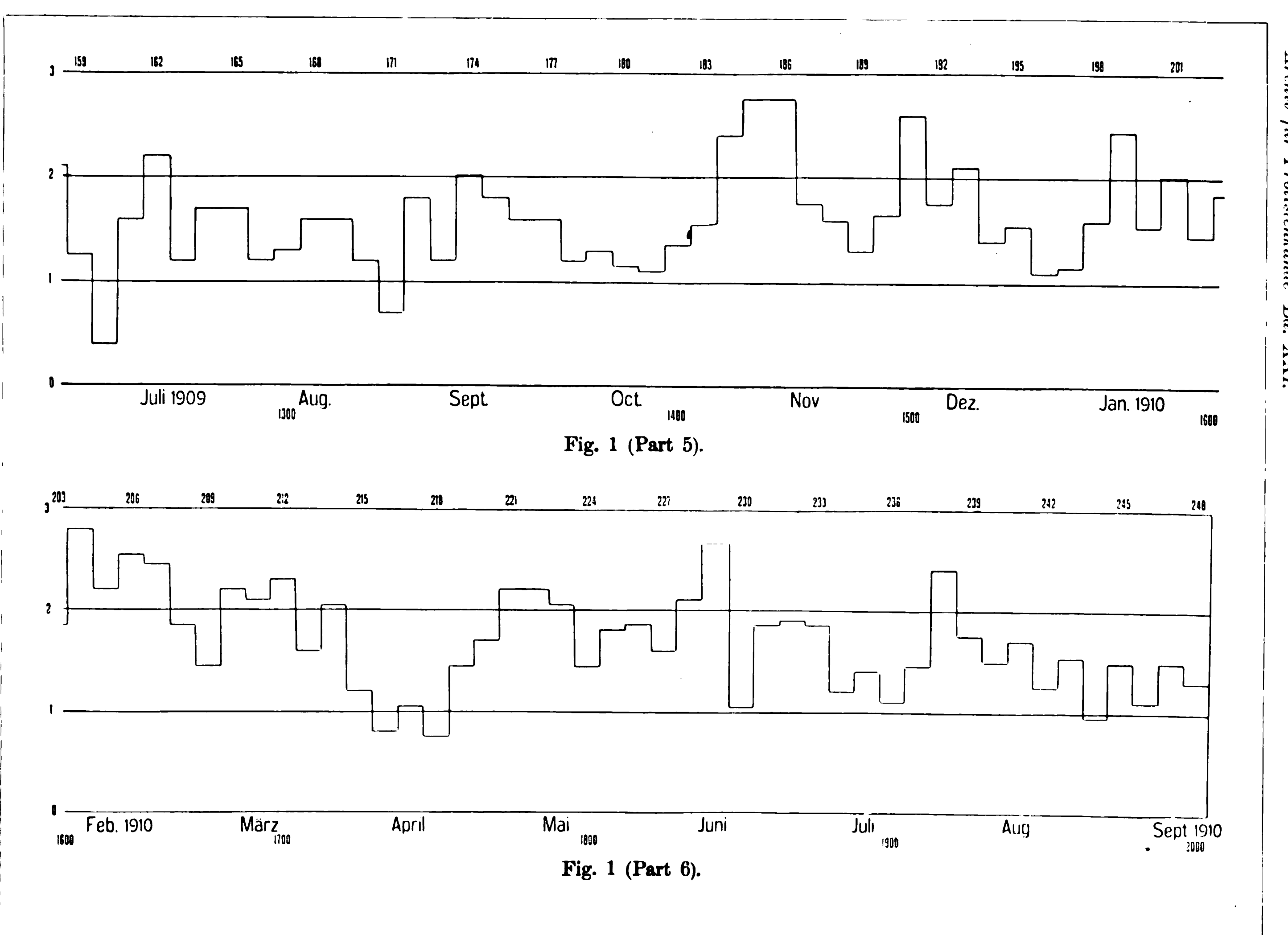


Fig. 1 (Part 5).

Fig. 1 (Part 6).

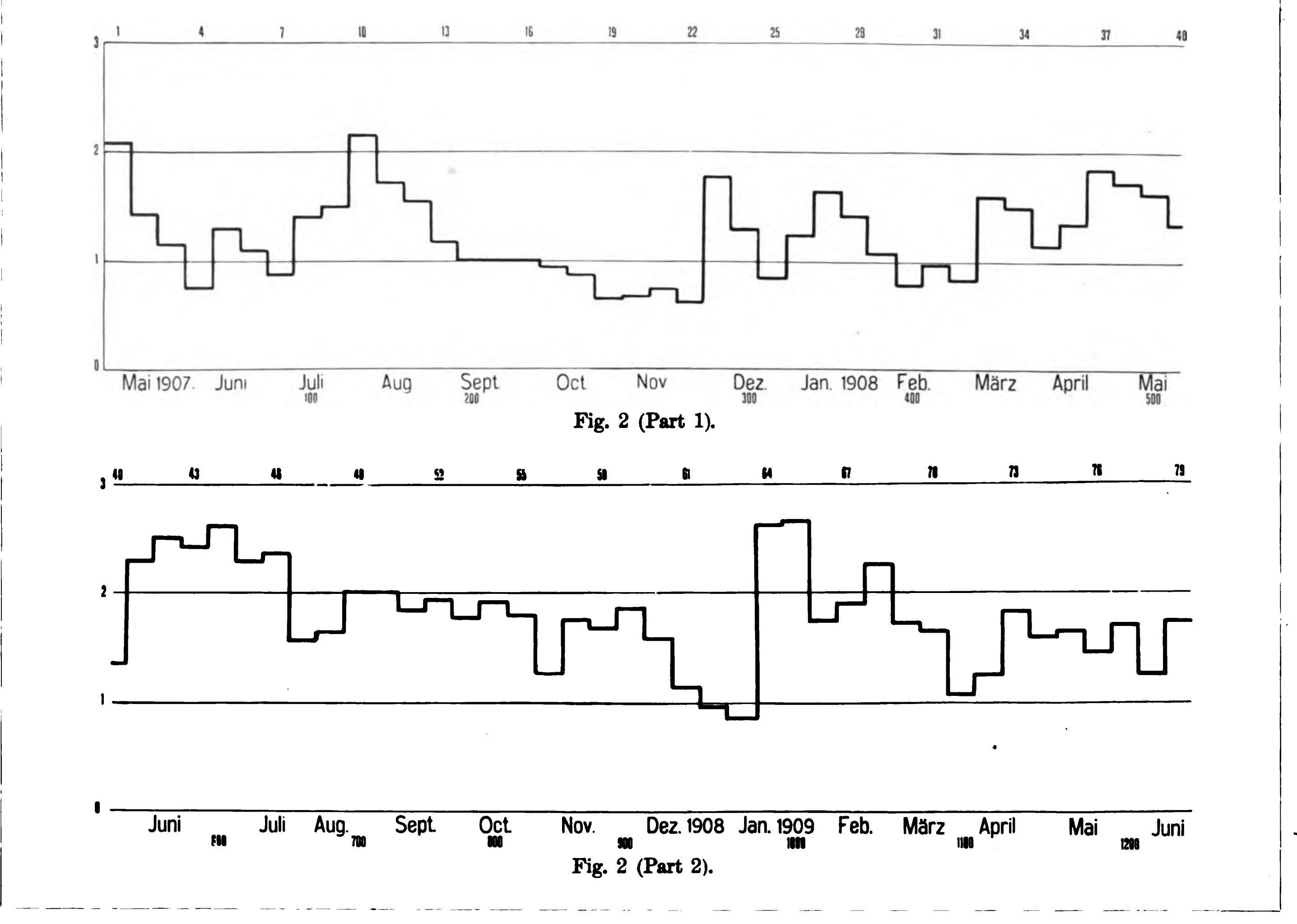


Fig. 2 (Part 1).

Fig. 2 (Part 2).

Fischer in Jena.

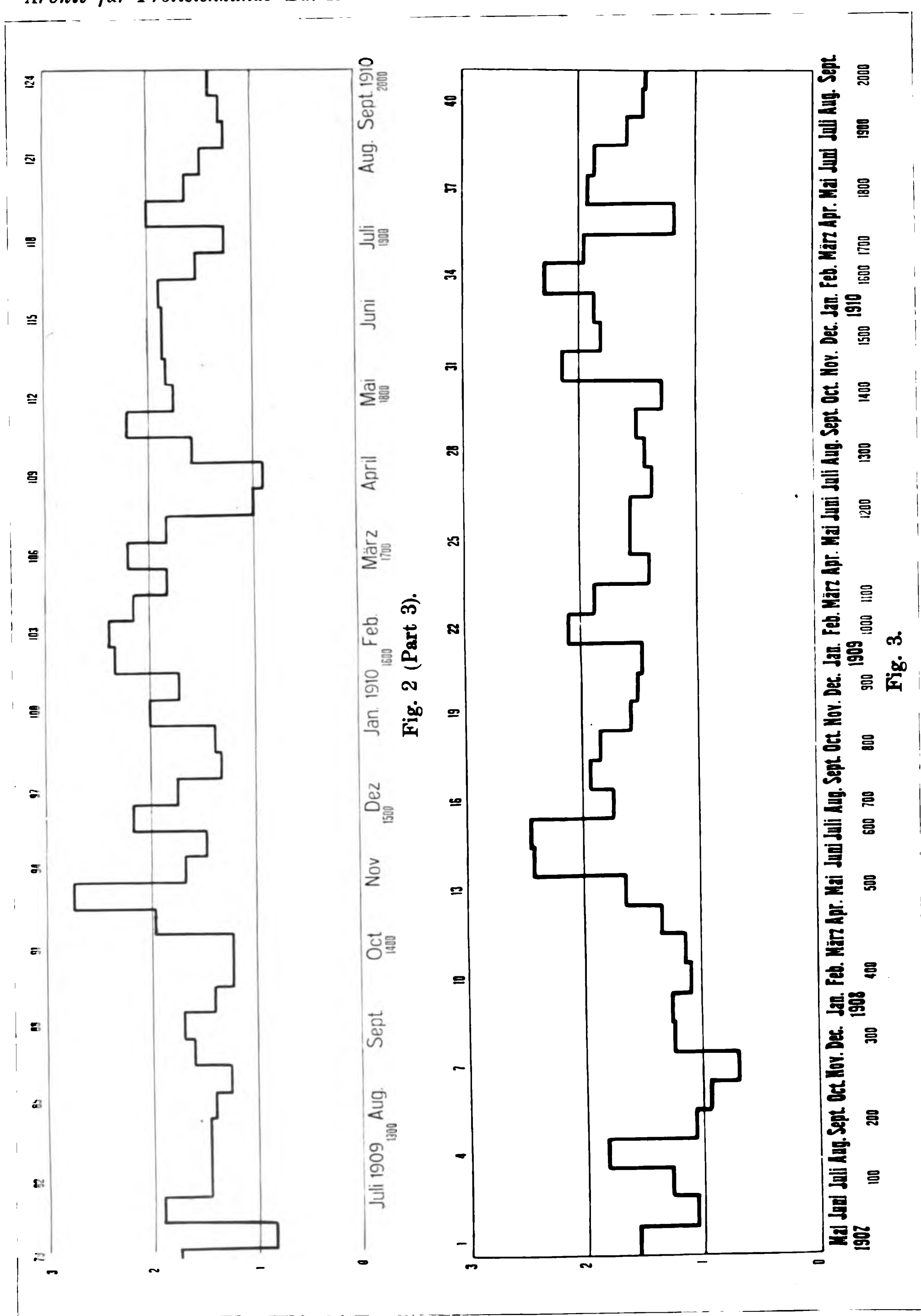
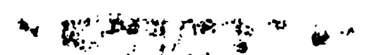


Fig. 2 (Part 3).

Fig. 3.



DATE DUE

[illegible]			
[illegible]			
[illegible]			
MAR 26 1966			
APR 12 1966			

GAYLORD PRINTED IN U.S.A.

